MIKROPERFUSIONSUNTERSUCHUNGEN ZUR SEKRETION UND RESORPTION VON HARNSÄURE AM PROXIMALEN TUBULUS DER RATTENNIERE

FLORIAN LANG

1972

PRINT KG

8 München 23
Clemensstraße 27
Telefon 342149

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. K. Kramer

Mikroperfusionsuntersuchungen zur Sekretion und Resorption von Harnsäure am proximalen Tubulus der Rattenniere

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
von
Florian Lang
aus
Ravensburg

München 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. P. Deetjen
Mitberichterstatter: Prof. Dr. K. Kramer
Dekan: Prof. Dr. med. W.Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 18.1.1972

Meinen lieben Eltern gewidmet

EINTEILUNG

		Seite
1	Einleitung	1
2	Methode	
	2.1. Versuchstiere	2
	2.2. Narkose	2
	2.3. Erhaltung der Körpertemperatur	2
	2.4. Tierpräparation	2
	2.5. Infusionslösungen	3
	2.6. Perfusionslösungen	3
	2.7. Perfusionstechnik und Längenmessung	4
	2.8. Bestimmungsmethoden	4
	2.9. Versuchsschema	5
3	Ergebnisse	8
	3.1. Resorption	8
	3.2. Sekretion	8
	3.3. Gleichzeitige Bestimmung von Resorption und Sekretion	8
	3.4. Gleichgewichtseinstellung	10
4	Diskussion	11
	4.1. Resorptionsbefunde	11
	4.2. Sekretionsbefunde	12
	4.3. Vergleich zwischen Resorption und Sekretion	14
	4.4. Gleichgewichtseinstellung	14
	4.5. Harnsäuretransport unter Bedingungen des freien Flusses+)	15
	4.5.1. Probleme der Berechnung	15
	4.5.2. Vergleich zwischen berechnetem Konzentrationsprofil und Meßwerten	16
	4.5.3. Analyse der Frei-Fluß-Funktion	18

+) siehe unter Begriffserklärungen (6.2) +7

4.6. Harnsäurebehandlung in verschiedenen Nephronabschnitten 20
4.7. Interpretation früherer Befunde 21
4.7.1. Stop flow 21
4.7.2. Clearence, Nierenschnitte etc. 22
4.7.3. Pharmaka 22
4.8. Speziesunterschiede 23
5 Zusammenfassung 24
6 Anhang 25
6.1. Mathematischer Anhang 25
6.2. Begriffserläuterungen 27
6.3. Abkürzungen, Tabellen 28
7 Literaturverzeichnis 33

1. EINLEITUNG

Die in der Literatur mitgeteilten Befunde über die renale Behandlung der Harnsäure sind recht unterschiedlich und konnten noch nicht in ein befriedigendes Konzept zusammengefaßt werden. Schon bei dem Vergleich der Harnsäureclearences (+1) verschiedener Tiergruppen fällt die Uneinheitlichkeit zwischen den Species auf: So beträgt die Harnsäureclearence beim Huhn etwa das 7-fache der Inulinclearence (+2), wie SHANNON bereits 1938 (69) zeigte. Der Dalmatiner Hund (42, 81), das Meerschweinchen (54) und die Ziege (53) besitzen eine Harnsäureclearence, die nur leicht über der Inulinclearence liegt. Die Harnsäureclearence von normalem Hund (8, 53), Ratte (31) und schließlich auch Menschen (37, 80) ist auf der anderen Seite deutlich kleiner als die Inulinclearence.

Die bei den erstgenannten Tieren zu Tage tretende Nettosekretion (+3) wurde als Ergebnis eines proximalen Sekretionsmechanismus gedeutet. Dabei wurde vermutet (49-52, 75, 56, 87), daß der Sekretionsmechanismus für Harnsäure gleiche Schritte aufweist wie der Sekretionsmechanismus für "schwache organische Säuren", der auch den Transport von Phenolrot (47), Diodrast (23, 43), Paraaminohippursäure (15, 71) und anderer mehr (18, 77) vermittelt, und der seinen Sitz im proximalen Tubulus hat.

Ein weiterer Befund, daß Harnsäure wie PAH in Nierenschnitten (+4) von Tieren der ersten Gruppe (Huhn, Dalmatiner etc.) akkumuliert wird und dort die Akkumulation von PAH kompetitiv hemmen kann (16, 60, 61), kann als Argument dafür aufgefaßt werden, daß Harnsäure über den Transportmechanismus für organische Säuren transportiert wird.

Sehr viel unübersichtlicher stellen sich die Verhältnisse bei der Gruppe Mensch, Hund und Ratte dar: In Nierenschnitten findet sich hier keine meßbare Akkumulation von Harnsäure (61). Substanzen, die den Sekretionsmechanismus für organische Säuren hemmen, wirken hier zum Teil fördernd (25, 38, 39, 40) und zum Teil hemmend (40, 93) auf die Harnsäureausscheidung. Manche Drogen zeigen sogar bei der gleichen Spezies beide Wirkungen, je nach Dosierung (21, 34, 44, 45, 55, 58, 78, 83, 84).

Es wurde die Theorie aufgestellt, daß es für Harnsäure neben einem Sekretionsmechanismus auch einen aktiven Resorptionsmechanismus gäbe, und daß dosisabhängig mehr der eine oder mehr der andere Mechanismus gehemmt würde.

Hinsichtlich der Lokalisation dieser Transportprozesse war auch kein klares Bild zu gewinnen: Eine frühere Behauptung, daß die filtrierte Harnsäure im proximalen Tubulus fast vollständig resorbiert würde und das Ausmaß der Harnsäureausscheidung im wesentlichen durch einen Sekretionsmechanismus im distalen Tubulus mitbestimmt würde (17, 36), mußte wieder verworfen werden, als spätere Autoren eine hohe Impermeabilität des distalen Tubulus und Sammelrohres für Harnsäure zeigen konnten (42, 53, 87).

Aber auch die neuere Theorie, daß der Harnsäuretransport im proximalen Tubulus bei distaler Impermeabilität einen bidirectionalen Flux ($^{+}5$) beinhaltet, wobei die Resorption aktiv und die Sekretion passiv (87) verlaufen sollte, kann folgende Befunde nicht befriedigend erklären: Bei besonderen Bedingungen (osmotische Diurese, Harnsäure-Belastung durch Infusion) steigt beim Hund (46) und auch beim Menschen (36, 70) über die Inulinclearence, das heißt es tritt Nettosekretion auf. Schließlich ergaben Punktate proximaler Tubuli der Ratte (31, 32) unter Frei-Fluß-Bedingungen ($^{+}6$) eine Harnsäuresekretion, ein Befund, der im Gegensatz zu der eben erörterten Theorie steht.

Um nun diese unter Frei-Fluß-Bedingungen erhobenen Befunde zu überprüfen und um die Faktoren zu analysieren, welche die beobachtete Nettosekretion bedingen, unternahmen wir Mikroperfusionsexperimente. Diese Technik erlaubt es, einzelne Tubulussegmente in vivo isoliert zu untersuchen und unidirectionale Fluxe von Harnsäure durch die Tubuluswand zu studieren.

2. METHODE

2.1. Als Versuchstiere dienten männliche Wistarratten mit einem Gewicht von 200-300 g. Die Tiere wurden mit Altromin-Standard-Diät ernährt. Sie hatten zum Trinkwasser und bis 14 Stunden vor Versuchsbeginn auch zum Futter freien Zugang.

2.2. Vor dem Versuch wurden die Ratten mit 120 mg Na-Barbiturat (Inactin) pro kg Körpergewicht anaesthesiert. Das Narkotikum wurde als 8 g%ige Lösung intraperitoneal verabreicht.

2.3. Anschließend wurde das Tier auf einen elektrisch geheizten Operationstisch gebracht, der mit Hilfe einer Thermosonde im Rectum des Tieres als Regelfühler die Temperatur des Tieres konstant hielt (37,5° C).

2.4. Danach wurde ein Plastiktubus in die Trachea und zwei Katheter in die rechte V. jugularis communis eingebunden. Einer der beiden Katheter war für die Infusion bestimmt, der andere zur Injektion von Testsubstanzen (Lisamingrün). Über die rechte A. femoralis wurde ein Katheter in die Aorta (bis etwa 1-2 cm unterhalb des Abganges der Nierenarterien) vorgeschoben, um während des Versuches Blutproben zu entnehmen. Die durch einen Flankenschnitt geöffnete Bauchhöhle wurde sofort mit körperwarmen Öl gefüllt, um einem größeren Flüssigkeitsverlust durch Transsudation vorzubeugen. Sodann wurde die linke Niere von der Fettkapsel befreit und in ein Plexiglasschälchen eingebettet, wo sie mit Watte fixiert und durch darüberströmendes Öl gegen Vertrocknen und Auskühlen geschützt wurde. Durch Eröffnung des Nierenbeckens wurde einem Rückstau von Harn vorgebeugt.

2.5. Während des Versuches erhielten die Tiere eine Infusion von 0,15 ml min^{-1} pro kg Körpergewicht. Als Infusionslösung diente in den meisten Fällen Ringerlösung. Nur bei zusätzlicher Infusion von Harnsäure hatte die Lösung folgende Zusammensetzung: 760 mg Na_2HPO_4, 200 mg Harnsäure, 2480 mg Mannit ad 100 ml aqu.dest. Die Osmolarität dieser Lösung betrug 300 mosmol, der pH lag bei pH 7,4.

2.6. Bei der Zusammensetzung der Perfusionslösung wurde darauf geachtet, daß keine Nettowasserflüsse auftraten. Eine solche sogenannte Gleichgewichtslösung (72, 73) enthält 110 mEq Na^+. Um Plasmaisotonie zu erzielen, wurde der Lösung Mannit zugefügt, ein vom Tubulus nicht resorbierbares Monosaccharid. Der so geschaffene Natriumgradient verhindert eine Nettoresorption von Natrium aus der Perfusionslösung, wobei wegen gleicher osmotischer Aktivität beiderseits der Tubuluszellen Nettowasserverschiebungen unterbleiben. Um kontrollieren zu können, ob tatsächlich keine Nettowasserflüsse auftraten, wurde der Perfusionslösung ^3H-Inulin zugesetzt. Da Inulin den Tubulus der Rattenniere nicht verlassen kann (33), seine Menge in der Flüssigkeit durchströmter Tubuli am Beginn und Ende der Perfusionsstrecke also gleich bleibt, gilt:

$$M_{Perf} = M_{TF}$$

$$V_{Perf}(In)_{Perf} = V_{TF}\ (In)_{TF}$$

wobei V_{Perf} das in den Tubulus eingebrachte und V_{TF} das am Ende des Tubulus entnommene Volumen bedeutet und (In) die Inulinkonzentration am Anfang (Perf) und Ende (TF) der Perfusionsstrecke ist. Die genannte Beziehung erlaubt über eine Konzentrationsmessung von Inulin eine Berechnung der Wasserflüsse. Da durch einen Wassereinstrom die in der Perfusionslösung enthaltene Harnsäure verdünnt wird, kann die nunmehr gesunkene Harnsäurekonzentration eine Nettoresorption von Harnsäure vortäuschen. Die Harnsäurekonzentration muß also um diesen Wasserflux (+6) korrigiert werden.

Außer der Forderung nach Volumenkonstanz wurden folgende Größen bei der Zusammensetzung der Gleichgewichtslösung beachtet: Sie sollte nicht mehr als 5 mEq/l K^+ und einen gepufferten pH von 6,8 besitzen, wie er normalerweise im proximalen Tubulus erreicht wird (41, 79). Als Puffer wurde Phosphatpuffer verwendet, da von ihm keine Beeinflussung des Harnsäuretransportes zu erwarten war (29). Eine Anfärbung der Perfusionslösung (z.B. mit Lisamingrün) wurde vermieden, um eine eventuelle Beeinflussung des Harnsäuretransportes durch den Farbstoff auszuschließen.

Die Lösung enthielt im einzelnen:
68,2 mg KH_2PO_4, 74,9 mg NaH_2PO_4, 156,2 mg Na_2HPO_4, 475 mg NaCl und 1472 mg Mannit ad 100 ml aqu. dest. Außerdem ^3H-Inulin (ca. 50 mmol) und zum Teil Harnsäure (markiert oder unmarkiert, siehe unten).

2.7. Die Perfusionen wurden mit einer von SONNENBERG und DEETJEN entwickelten Mikroperfusionspumpe durchgeführt (73). Die Abbildung 1 soll den Vorgang veranschaulichen: Eine ölgefüllte Glaskapillare wurde in eine oberflächliche Windung des proximalen Tubulus eingestochen. Dann wurden einzelne Öltropfen injiziert, um den weiteren Verlauf des Tubulus zu verfolgen. Eine zweite Kapillare, die mit der Perfusionslösung gefüllt auf die Pumpe montiert war, wurde nun in die nächste oberflächliche Windung eingestochen. Nun wurde das Lumen des Tubulusabschnittes zwischen beiden Kapillaren mit Öl gefüllt und die ölgefüllte Kapillare herausgezogen. Das Filtrat des zu untersuchenden Tubulus konnte nun durch die Einstichstelle der ersten Kapillare entweichen. Der Ölblock verhinderte eine Vermischung des Filtrates mit dem Perfusat. Nun wurde die ölgefüllte Kapillare distal von der Perfusionskapillare eingestochen, um Proben des Perfusates zu entnehmen. Distal von der Entnahmekapillare wurde ein weiterer Ölblock gesetzt, um ein Ansaugen von distaler Flüssigkeit in die Entnahmekapillare zu verhindern (in der Abbildung nicht dargestellt). Nach Beendigung jedes Experimentes wurde der untersuchte Tubulus mit flüssigem Neopren gefüllt. Durch die Säuerung im Tubulus wurde der Kunststoff gehärtet und konnte nach Mazeration der Niere mit Salzsäure (18%ig) aus dem aufgeweichten Nierengewebe gelöst werden. Sodann wurde die Länge des Kunststoffadens zwischen den beiden Einstichstellen unter dem Mikroskop gemessen (11).

2.8. Die Bestimmung der tubulären Harnsäurekonzentration geschah mit einer für den Ultramikrobereich modifizierten Phosphorwolframsäuremethode (31). Hierbei wurden 1 µl Borat-gepufferter Phosphorwolframsäurelösung mit 40 nl Tubulusflüssigkeit gemischt in eine Glaskapillare eingebracht und diese Kapillare auf beiden Seiten zugeschmolzen. Nach einer Inkubation von 20-50 min wurde im Zeiss SPF, PMQ II bei 755 nm die Extinction gemessen. Als Küvette diente dabei eine mit Schwarzglas ausgestattete Mikroküvette nach SCHNEIDER und GREGER (65). Die Plasmakonzentration wurde mit einer von BOERINGER & SOEHNE angegebenen Uricasemethode bestimmt. Mit dieser Methode wurden auch die Eichlösungen für die Phosphorwolframsäuremethode überprüft. Zur Bestimmung von Tracerflüssen wurde die Aktivität 2-^{14}C-markierter Harnsäure in einem Packard Szintillations-Spektrometer (Modell 3320 mit äußerem Standard) gemessen, wobei eine Szintillationsflüssigkeit folgender Zusammensetzung verwendet wurde: 200 ml abs. Alk. 800 ml Toluol, 7 g/l PPO und 0,3 g/l POPOP. Die Aktivität von ^{3}H-Inulin wurde auf gleichem Wege gemessen.

Abb. 1
Schema der Perfusionsexperimente:

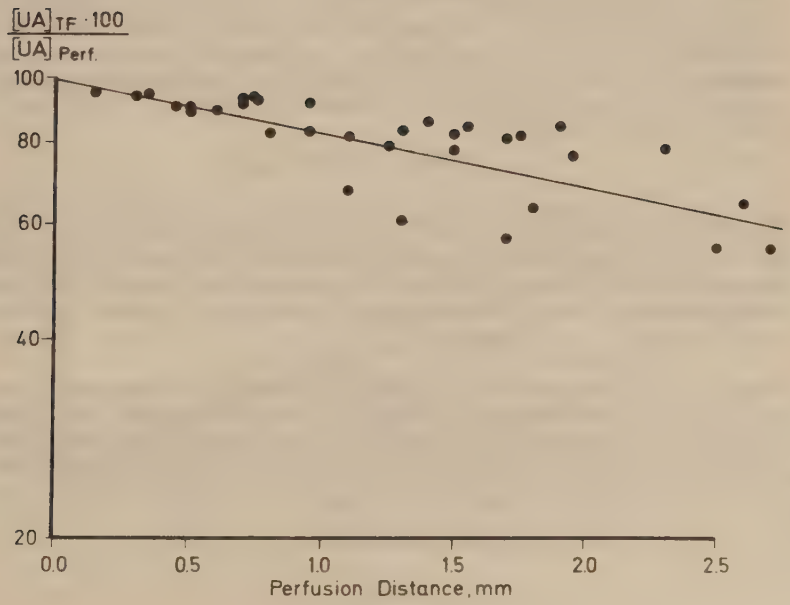
Eingezeichnet sind: Glomerulum, Tubulus und peritubuläre Kapillare. Ferner sind die einzelnen Punktionskapillaren eingezeichnet: von links nach rechts,
1. Kapillare zum setzen des proximalen Ölblocks,
2. Kapillare mit Perfusionsflüssigkeit,
3. Kapillare zur Entnahme von Tubulusflüssigkeit.
Der distale Ölblock ist nicht eingezeichnet.
Die Abnahme der Konzentration an radioaktiver Harnsäure entlang des Tubulus ist angedeutet.

Folgende Versuchsanordnungen wurden gewählt:

Versuchs-serie:	die Perfusions-lösung enthielt:	infundiert wurde:	bestimmt wurden: +)
I	markierte Harnsäure ^{3}H-Inulin	Ringer	^{14}C Aktivität markierter Harnsäure ^{3}H-Aktivität
II	nur ^{3}H Inulin	Ringer oder Harnsäure-Lösung	chemisch die Gesamtharn-säure ^{3}H-Aktivität
III	markierte Harnsäure ^{3}H-Inulin	Ringer	chemisch die Gesamt-HS ^{14}C-Aktivität ^{3}H-Aktivität
IV	unmarkierte Harnsäure ^{3}H-Inulin	Ringer	chemisch die Gesamtharn-säure ^{3}H-Aktiv.

+) Es wurden die betreffenden Bestimmungen stets sowohl in der Perfusionslösung als auch in den Proben von der Tubulusflüs-sigkeit durchgeführt.

Abb. 2
Abfall der Konzentration an radioaktiver Harnsäure in der Tubulusflüssigkeit bezogen auf die Ausgangskonzentration ($(HS)_{TF}/(HS)_{Perf.}$) entlang der perfundierten proximalen Tubulusabschnitte:
Die Ordinate ist in logarithmischem Maßstab aufgetragen. Die eingezeichnete Gerade ist die errechnete Regression der dargestellten Punkte.



3. ERGEBNISSE

3.1. In Abbildung 2 ist der Abfall der ^{14}C-Aktivität entlang der Perfusionsstrecke halblogarithmisch aufgetragen. Die Werte entstammen den Versuchsserien I und III (vgl. Tabelle 1 und 3). Der Abfall ist exponentiell und unabhängig von den Ausgangskonzentrationen im Bereich von 60 bis 280/umol/l. Die eingezeichnete Regressionsgerade ergibt eine Halbwertslänge von etwa 4 mm.

3.2. In der nächsten Serie von Experimenten (Tabelle 2, Abbildung 2, geschlossene Kreise) wurde der Harnsäureeinstrom (Influx) studiert. TF/P Harnsäure, das heißt der Quotient aus der Harnsäurekonzentration in der Tubulusflüssigkeit und der Harnsäurekonzentration im Plasma, stieg über die Länge des perfundierten Tubulussegmentes stetig an. Der Plasmaspiegel von Harnsäure lag um 100 /umol/l bzw. zwischen 150 und 500/umol/l bei Tieren, denen zusätzlich Harnsäure infundiert wurde. Die unterschiedlichen Harnsäureplasmakonzentrationen hatten keinen erkennbaren Einfluß auf den Konzentrationsquotienten von Harnsäure in Tubulusflüssigkeit und Plasma (TF/P Harnsäure). Wie später noch ausführlich erörtert wird, ist der Anstieg der Harnsäurekonzentration im Tubulus dem Plasmaspiegel proportional.

3.3. In Abbildung 3 sind außer den Werten aus Versuchsserie II auch entsprechende Werte aus Serie III (Tabelle 3, in der Abbildung 3 offene Kreise) eingezeichnet. In diesen Experimenten befand sich markierte Harnsäure in der Perfusionslösung, und zwar in Konzentrationen von 60 - 250/umol/l. Es wurde in der Perfusionslösung die Konzentration an radioaktiver Harnsäure sowie deren Aktivität gemessen. Aus der Aktivität am Ende des Tubulussegmentes konnte nun die dort noch vorhandene Konzentration an radioaktiver Harnsäure bestimmt werden:

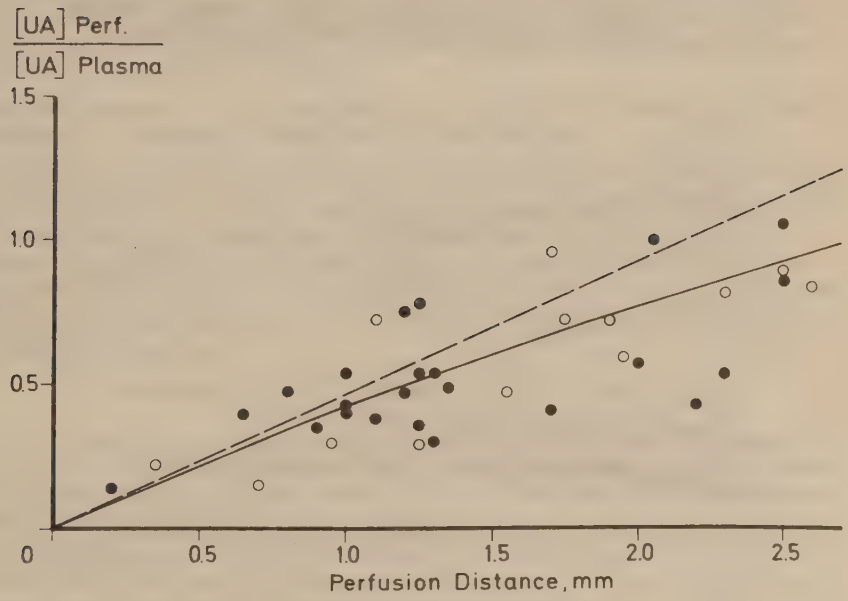
$$(HS)^{+}_{I} = (HS)^{+}_{o} \frac{Akt_1}{Akt_o}$$

Der Anstieg der Konzentration an unmarkierter Harnsäure konnte nun durch Subtraktion der errechneten radioaktiven Konzentration von der chemisch bestimmten Gesamtkonzentration bestimmt werden. Die Konzentration an unmarkierter Harnsäure war in der Perfusionslösung gleich 0 und hatte bei einer bestimmten Länge (1) den Wert:

$$(HS)_1 = (HS)_{total} - (HS)^{+}_{1} .$$

Somit sind diese Werte mit denen aus Serie II durchaus vergleichbar. Wie die Abbildung 3 zeigt, hatte Anwesenheit von radioaktiver Harnsäure im Lumen (in Konzentrationen im Bereich normaler Tubuluskonzentrationen) keinen Einfluß auf den Harnsäureeinstrom.

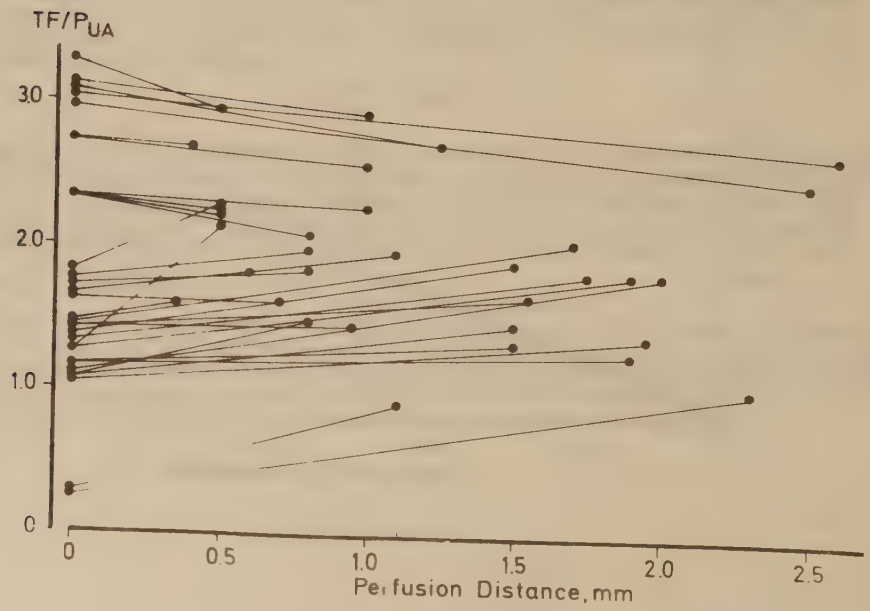
Abb. 3
Anstieg der luminalen Konzentration an unmarkierter Harnsäure bezogen auf die Plasmakonzentration entlang der perfundierten Abschnitte proximaler Tubuli.
Die offenen Symbole bezeichnen Werte aus Versuchsserie III, die geschlossenen Ergebnisse von Versuchsserie II (siehe Text). Die durchgezogene Linie entspricht der im mathematischen Anhang hergeleiteten Regression für diese Punkte. Die gestrichelte Gerade stellt die aus den Werten errechnete unidirectionale Sekretion dar.



3.4. Die Werte aus Experimenten der Serie IV (siehe Tabelle 4) sind in Abbildung 4 dargestellt. Hierbei wurde mit Lösungen unterschiedlicher Harnsäurekonzentrationen perfundiert. Das Verhältnis der Harnsäurekonzentration am Anfang (in der Perfusionslösung) und am Ende (in der Tubulusflüssigkeit bei der Länge 1) der Perfusionsstrecke zur Plasmakonzentration ist durch Punkte gekennzeichnet, die durch Geraden verbunden sind. Es zeigt sich, daß Ausgangskonzentrationen von mehr als dem 2,5-fachen der Plasmakonzentration im allgemeinen abfallen, während Ausgangskonzentrationen von weniger als dem 2,5-fachen der Plasmakonzentration eine ansteigende Tendenz aufweisen. Somit scheint Harnsäure unter Gleichgewichtsbedingungen (keine Wasserflüsse) im proximalen Tubulus eine Konzentration anzustreben, die das 2,5-fache des Plasmaspiegel beträgt.

Abb. 4
Einstellung eines Konzentrationsgleichgewichtes zwischen Tubulusflüssigkeit und Plasma entlang der Perfusionsstrecke.

Die Geraden verbinden Anfangs- und Endwerte eines einzelnen Experimentes miteinander.



4. DISKUSSION

4.1. Wie bereits erwähnt, zeigt Abbildung 2, daß der Quotient aus der Harnsäurekonzentration in der Tubulusflüssigkeit ($(HS)_{TF} = c_{(l)}$) und der Konzentration in der Perfusionsflüssigkeit ($(HS)_{Perf} = c_o$) exponentiell abfällt. Außerdem bleibt die Kurve von Änderungen der Ausgangskonzentrationen unbeeinflusst, der mit ^{14}C-markierter Harnsäure gemessene Konzentrationsabfall ist also der luminalen Konzentration proportional.

Der Proportionalitätsfaktor

$$a = \frac{c}{c_o \; l}$$

wurde aus allen Meßwerten errechnet und ergibt einen Mittelwert von $0{,}18 \pm 0{,}08\ mm^{-1}$. Unter der Bedingung, daß kein nennenswerter Rückflux von Harnsäure, die bereits den Tubulus verlassen hat, stattfindet, beschreibt a den unidirectionalen Resorptionsflux für Harnsäure. Die peritubuläre Konzentration und damit auch der Rückflux von markierter Harnsäure ist in diesen Experimenten aus zwei Gründen vernachlässigbar:

a. Aus der Tubulusgeometrie (ein System konzentrischer Zylinder) folgt, daß das Verdünnungsvolumen für radioaktive Harnsäure, die das Lumen verläßt, im Abstand d vom Tubulus dem Quadrat des Abstandes proportional ist: $V = K\ d^2$, und sich vom Tubulus entfernende markierte Harnsäure so verdünnt wird, daß ein quantitativer Rückflux unwahrscheinlich wird.

b. Der Blutstrom in den peritubulären Kapillaren sorgt für einen schnellen Abtransport "resorbierter" Harnsäure.

Daher kann man annehmen, daß der Tracerflux den unidirectionalen Flux für Harnsäure über das Tubulusepithel hinweg beschreibt. Der Tracerflux läßt allerdings keine Rückschlüsse auf die Permeabilität einer der überschrittenen Membranen zu. Harnsäure, die den Tubulus verlassen hat, die aber noch nicht die peritubuläre Membran überschritten hat, kann vernachlässigt werden, wie im Anhang gezeigt wird (siehe 6.2 +7). Somit läßt sich, wie im mathematischen Anhang gezeigt wird (6.1), aus a die transtubuläre Permeabilität ausrechnen:

$$p = \frac{a \; r \; \bar{v}}{2}$$

$\bar{v}$ = Lineargeschwindigkeit der Flüssigkeit im Tubulus, aus Perfusionsstromstärke durch Fläche (Querschnitt) des Tubulus errechnet.
r = Der Radius des Tubuluslumens, bei konstanten Perfusionsstromstärken ebenfalls konstant.
Aus der genannten Gleichung wurde die transtubuläre Permeabilität für Harnsäureausstrom zu $11\ 10^{-5}\ cm\ sec^{-1}$ errechnet. Dieser Wert, der bei einem pH von 6,8 gefunden wurde, steht in guter Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen von BAUMANN et al. (6, 57, 74),

die bei einem pH von 8 eine Permeabilität von 10 bis 13 10^{-5} cm/sec angegeben haben.

4.2. Die Bestimmung des unidirectionalen Harnsäureinfluxes wird dadurch erschwert, daß sezernierte Harnsäure in der Tubulusflüssigkeit angehäuft wird und dann wieder resorbiert werden kann. Daher stellen die Werte in Abbildung 3 nur eine Nettosekretion dar. (Das gilt auch für die Werte aus Versuchsserie III, da die Resorption sezernierter unmarkierter Harnsäure durch die Aktivitätsmessung nicht erfaßt wird und daher rechnerisch nicht eliminiert werden kann.) Die Werte sind die Differenz zwischen unidirectionaler Sekretion (bzw. der dadurch erzielten Anreicherung von Harnsäure im Tubuluslumen) und unidirectionaler Resorption. Nun ist die Charakteristik und das Ausmaß der unidirectionalen Resorption bekannt (s.o.). Auf der anderen Seite zeigt ein Vergleich der Ergebnisse aus Serie II (in der Abbildung 3 geschlossene Symbole) und Serie III (offene Symbole), daß der Anstieg unmarkierter Harnsäure pro Längeneinheit unabhängig ist von der Anwesenheit markierter Harnsäure im Tubulus. Unter Bedingungen des konstanten Wasserflusses, also Volumenkonstanz, in unseren Experimenten, und einem Plasmaspiegel, der während der Perfusionsdauer konstant bleibt, kann man die übrigen Parameter des Tubulus konstant setzen. Somit kann der Konzentrationsanstieg pro Länge ($\triangle c$), der ausschließlich durch Sekretion erfolgt (unidirectionale Sekretion), konstant gesetzt werden:

$$\frac{\triangle c}{\triangle l} = k$$

Die von uns gemessene Konzentration am Punkte 1 ist das Ergebnis von entgegengesetzt verlaufenden unidirectionalen Flüssen, wie sie oben beschrieben wurden. Sie wird, wie das im mathematischen Anhang gezeigt wird, durch folgende Gleichung beschrieben:

$$c_{(1)} = \frac{k}{a} (1-e^{-al})$$

Somit kann k aus der gemessenen Konzentration und der dazu bestimmten Länge eines jeden Wertes berechnet werden:

$$k = \frac{c_{(1)}\ a}{1- e^{-al}}$$

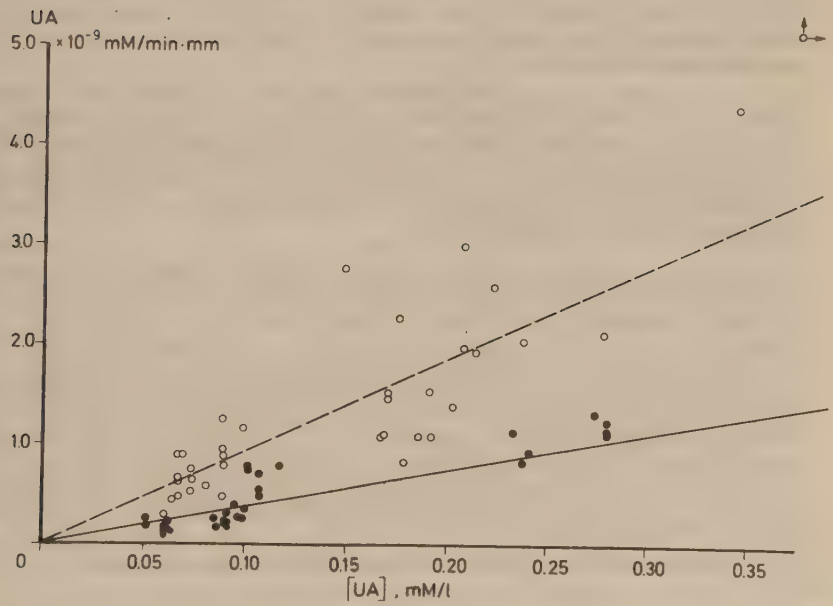
Die unidirectionale Sekretionsrate ist dann

$$I = k \dot{V}$$

wobei $\dot{V}$ die Perfusionsstromstärke ist (22,25 nl/min). Die unidirectionale Resorptionsrate ist analog dazu:

$$I' = a\ c_{(1)}\ \dot{V}$$

Abb. 5
Abhängigkeit der Transportraten (in Sekretions- bzw. Resorptionsrichtung) von den jeweiligen Ausgangskonzentrationen (im Plasma bzw. Tubuluslumen):
Die Resorptionsbefunde sind durch geschlossene, die Sekretionsbefunde durch offene Symbole dargestellt.
Die Steigungen der eingezeichneten Geraden entsprechen den (arithmetischen) Mittelwerten aus den Quotienten von den Transportraten zu den jeweiligen Ausgangskonzentrationen. (Die Größen a und b, siehe Text.)



4.3. In Abbildung 5 sind die Sekretionsraten der Versuchsserien II und III gegen die Plasmakonzentration und die Resorptionsraten aus Serie I und III gegen die luminale Konzentration aufgetragen. Die Sekretionswerte sind durch offene, die Resorptionspunkte durch geschlossene Symbole dargestellt. Im Bereich der beobachteten Konzentrationen sind beide Flüsse den Konzentrationen im Plasma bzw. im Lumen proportional. Der unidirectionale Sekretionsflux, der ja bei konstantem Plasmaspiegel konstant angenommen wurde, ist, wie Abbildung 5 zeigt, der Plasmakonzentration proportional und kann nunmehr analog zum Resorptionsflux folgendermaßen formuliert werden:

$$k = b\, c_p$$

Die Werte von b wurden ebenfalls (wie k) für jeden einzelnen Meßwert berechnet. Der Mittelwert liegt bei $0{,}46 \pm 0{,}15\ mm^{-1}$. Wie im mathematischen Anhang (6.1) gezeigt wird, kann b (analog zu a) folgendermaßen beschrieben werden:

$$b = \frac{2\,P`}{r\,v}$$

Dabei ist P`die Permeabilität der tubulären Wand in Sekretionsrichtung. Über diese Formel wurde P`mit etwa $28\ 10^{-5}$ cm/sec gefunden. Die Tatsache, daß P`2,5 mal so groß ist wie P, kann nur dadurch erklärt werden, daß neben einfacher Diffusion ein weiterer Sekretionsmechanismus beteiligt ist.

Das Überwiegen der Sekretion kann durch rein passive Vorgänge (pH luminal-peritubulär, Membranpotential)nicht erklärt werden. Somit scheint die Annahme eines aktiven Transportmechanismus durchaus gerechtfertigt. Freilich scheint dieses Transportsystem bei den von uns studierten Konzentrationen noch nicht im Sättigungsbereich zu arbeiten, da durch Erhöhung der Plasmakonzentration die Sekretionsrate gesteigert werden kann.

4.4. Nach unseren Befunden, daß 1. sowohl unidirectionaler Sekretionsflux als auch unidirectionaler Resorptionsflux den Konzentrationen in Plasma bzw. Lumen proportional sind und daß 2. der Sekretionsflux bei gleichem Gradienten $c_{(l)} = c_p$ etwa 2,5-fach so groß ist wie der Resorptionsflux, sollte bei einem Verhältnis $c_{(l)} = 2{,}5$ c der Nettoflux null sein, da unidirectionaler Sekretionsflux und Resorptionsflux gleich groß sind. Die Konzentration sollte also im Lumen konstant bleiben, wenn sie 2,5 cp beträgt. Bei luminalen Konzentrationen unter diesem Wert sollte der Sekretionsflux überwiegen, die Konzentration also ansteigen, bei Konzentrationen über dem genannten Wert sollte die Resorption überwiegen und die luminale Konzentration absinken.

Die Ergebnisse der Serie IV bestätigen diese Annahme.

4.5. Harnsäuretransport unter Bedingungen des freien Flusses

4.5.1. Probleme der Berechnung: Nachdem aus den Perfusionsergebnissen ein in sich geschlossenes Bild entworfen werden konnte, stellt sich natürlich die Frage, ob diese unter Bedingungen des konstanten Wasserflusses gewonnenen Erkenntnisse auf den physiologischen Fall der Tubulusfunktion übertragen werden kann. Die zu den oben abgeleiteten Faktoren a und b hinzukommende Wasserresorption führt zu einer Abnahme der luminalen Stromstärke. Die Änderung der Stromstärke über die Länge wurde in Formel (3`) des mathematischen Anhanges berücksichtigt. Zunächst muß überlegt werden, ob unter Bedingungen des freien Flusses weitere Faktoren eine Rolle spielen, die unter Gleichgewichtsbedingungen entweder fehlen oder konstant sind:

1. Falls für Harnsäure ein solvent drag besteht, würde bei Wasserresorption die Harnsäureresorption um einen dem Wasserfluß proportionalen Wert verstärkt werden. Da für Substanzen ähnlicher Molekülgröße wie Harnsäure kein nennenswerter (19) solvent drag besteht, ist dieser Transportweg auch für Harnsäure unwahrscheinlich.

2. Bei Abnahme des Wasserflusses über die Länge dürfte (im Gegensatz zu Gleichgewichtsbedingungen) der luminale Radius nicht konstant bleiben (20). Da aber unsere luminale Stromstärke bei den Perfusionsexperimenten genau zwischen den frühproximalen (ca. 35 nl/min entsprechend 68, 67)) und den spätproximalen Werten (14 nl/min entsprechend 35 nl/2,5 (68, 31)) liegt (nämlich bei 22,25 nl/min) und der von uns in die Berechnung aufgenommene Radius ebenfalls genau zwischen den beiden Extremwerten liegt, ist die zu erwartende Abweichung in unserer Berechnung sehr gering.

3. Wenn die ursprüngliche Annahme von Gutmann und Yü (81), daß Harnsäure vollständig filtriert wird, nicht zutrifft, wie aus Arbeiten von Alvsaker geschlossen werden kann (1-3), wäre die Ausgangs-Konzentration c_o nicht identisch mit der Plasmakonzentration c_p. Da allerdings in diesem Fall das Filtrat geringer konzentriert wäre als das Plasma, würde am Anfang die Sekretion stark überwiegen und unter Berücksichtigung der gleichzeitigen Volumenresorption schon nach einem kurzen Stück Tubuluslänge (bei 80% Filtrierbarkeit nach 0,3 mm) die Plasmakonzentration erreicht werden. Damit spielt auch dieser Faktor für die Vorausberechnung der Frei-Fluß-Verhältnisse keine Rolle.

4. Eine Abweichung aufgrund unterschiedlicher Zusammensetzung der Tubulusflüssigkeit bei freiem Fluß und Perfusionsversuchen ist nicht zu erwarten, da weder im normalen Filtrat noch in der Perfusionslösung Substanzen enthalten sind, denen ein nennenswerter Einfluß auf den Harnsäuretransport zugeschrieben werden kann.

5. Wie in den Perfusionsgleichungen ist auch in der Berechnung für Frei-Fluß-Berechnungen v_o in den Größen a und b enthalten. Im ersten Fall bezeichnet v_o die über den ganzen Tubulus konstante Strömungsgeschwindigkeit ($\bar{v}_o = \dot{V}_{Perf} / r^2 = 22{,}25 \text{ nl min}^{-1} / r^2$). Im zweiten Fall aber bedeutet sie die Strömungsgeschwindigkeit zu Beginn des Tubulus. Bei Ratten des verwendeten Stammes unter unseren Versuchsbedingungen (Narkose, operative Nierenfreilegung, Infusio-

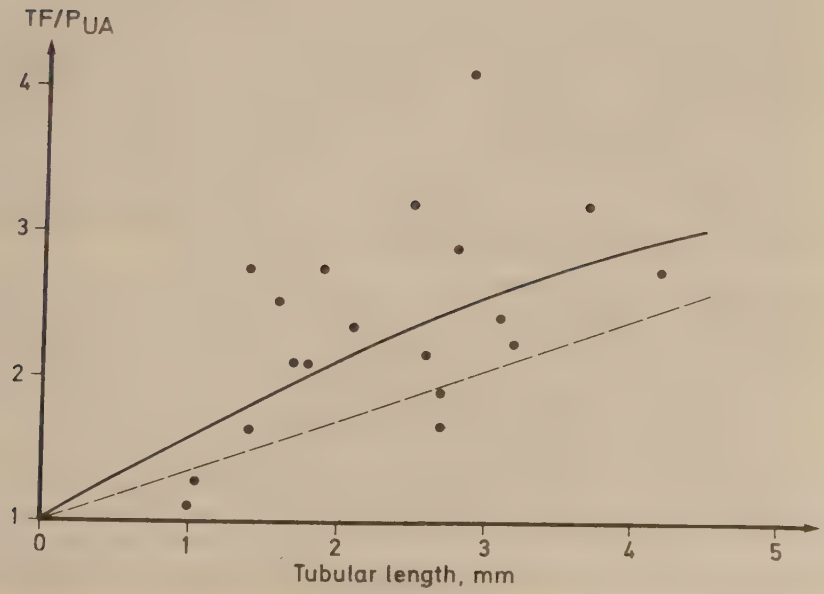
nen) liegt das Filtrat und damit die Stromstärke am Beginn des Tubulus in einem einzelnen, von der Oberfläche aus zugängigen Nephrons bei 35 nl min^{-1} (67, 68). Es ist dann $\bar{v}_o$ = 35 nl min^{-1}/ πr^2. Die Größen a und b müssen also um den Faktor 35/22,25 = 1,5 korrigiert werden. Es resultieren die Größen a` (0,12 $mm^{-1}$) und b` (0,3 mm^{-1}).

6. Ein besonderes Problem stellt die Angabe der Wasserresorption dar. Nach einer Modellvorstellung von GERTZ (30) bleibt die Wasserresorption über die Länge konstant, der Wasserfluß nimmt also linear ab. Unter einer solchen Annahme läßt sich relativ einfach eine Beziehung zwischen der Konzentration bei der Länge (1) zur Länge selbst herstellen. Auf der anderen Seite stimmt diese Funktion für die Wasser-Resorption nichtmit den Meßwerten für Inulin überein, die gleichzeitig mit den Harnsäurekonzentrationen bestimmt wurden (31). Die Inulinwerte können am besten durch einen linearen Anstieg der Konzentration von Inulin über die Länge interpretiert werden, ein Befund, der bereits von anderen Autoren erhoben wurde (20). Ein solcher linearer Anstieg der Konzentration für die Testsubstanz Inulin würde bedeuten, daß der Wasserfluß über die Länge hyperbolisch abnimmt (siehe mathematischer Anhang). Die Steigung der Regressionsgeraden für TF/P Inulin betrug 0,35 mm^{-1}. Unter dem Ansatz eines solchen Wasserflusses kann aber keine in geschlossener Form integrierbare Differentialgleichung aufgestellt werden. Eine näherungsweise Berechnung des Konzentrationsprofils über die Differentialgleichung (3', siehe mathematischer Anhang) kann durch Wahl sehr kleiner Schritte (1) ausreichend genau (Fehler kleiner als 1%) durchgeführt werden.

4.5.2. Vergleich zwischen berechnetem Konzentrationsprofil und Meßwerten: Abb. 6 zeigt den Anstieg von TF/P Harnsäure im Verlaufe des proximalen Tubulus. In der Abbildung sind alle diejenigen Harnsäurewerte eingezeichnet, bei denen der gleichzeitig gemessene Inulinwert TF/P Inulin nicht mehr als 25% von der Mittelwertsgeraden (des ganzen Kollektivs, gestrichelte Linie) abweicht. Die Beschränkung auf diese Punkte ist notwendig, da bei der starken Abhängigkeit des Konzentrationsprofils von dem Ausmaß der Wasserresorption nur ein Vergleich zwischen dem für eine ganz bestimmte Stärke der Wasserresorption berechneten Konzentrationsprofil und Meßwerten zulässig ist, bei denen die Wasserresorption nicht allzu sehr von dem in die Berechnung eingesetzten abweicht. Der TF/P-Quotient für Harnsäure, wie er sich aus den Konstanten der Perfusionsexperimente errechnet, ist in Abbildung 6 durch eine ausgezogene Linie dargestellt.

Trotz der Streuung der Punkte ist erkennbar, daß mit beiden voneinander unabhängigen Methoden ein ähnliches Bild des Konzentrationsprofiles von Harnsäure im proximalen Tubulus zu erhalten ist.

Abb. 6
Beziehung zwischen den Harnsäurekonzentrationen in der Tubulusflüssigkeit bezogen auf die Plasmakonzentration und der Tubuluslänge bei freiem Fluß:
Die eingezeichneten Punkte entsprechen Meßwerten aus früheren Punktionsversuchen (31).
Die gestrichelte Gerade stellt den Quotienten aus der Inulinkonzentration in der Tubulusflüssigkeit zu der im Plasma dar. Die Steigung entspricht der linearen Regression der bei (31) gleichzeitig mit Harnsäure bestimmten Inulinwerte.
Die durchgezogene Linie stammt aus einer Berechnung des Konzentrationsprofils, wenn neben den in den Perfusionsexperimenten gefundenen Größen a und b auch ein Wasserfluß angenommen wird, der dem Anstieg der Inulingeraden entspricht.



4.5.3. Analyse der Frei-Fluß-Funktion: Bei der Betrachtung der Frei-Fluß-Funktion werden folgende Punkte deutlich:

1. Wenn unter Frei-Fluß-Bedingungen ein TF/P Harnsäure von 2,5 erreicht ist, bei dem kein Nettoflux für Harnsäure besteht - wie unter Perfusionsbedingungen gezeigt wurde (siehe S.14) -, steigt die luminale Konzentration weiter an, da die an diesem Punkt vorhandene Harnsäuremenge infolge der Wasserresorption weiter konzentriert wird. Nach unseren Berechnungen ist dieser Punkt bei 3 mm Tubuluslänge erreicht. Die Steigung der Funktion (TF/P Harnsäure gegen Länge) sollte hier mit der Steigung der entsprechenden Funktion für Inulin ("Inulingerade") identisch sein. Dies wird im mathematischen Anhang abgeleitet.

2. Während bei Perfusionsbedingungen (keine Wasserfluxe) ein Konzentrationsgleichgewicht dann erreicht ist, wenn sich Resorption und Sekretion die Waage halten, also ein Nettoflux null für Harnsäure besteht, ist unter Frei-Fluß-Bedingungen ein solches Gleichgewicht erst dann erreicht, wenn die prozentuale Nettoresorption von Harnsäure gleich der prozentualen Resorption von Wasser ist. Da aber die prozentuale Wasserresorption über die Länge abnimmt, muß auch das jeweils angestrebte Gleichgewicht für Harnsäure über die Länge abnehmen. Schließlich nähert sich das angestrebte Gleichgewicht dem Wert, der unter Gleichgewichtsbedingungen in den Perfusionsexperimenten gefunden wurde, weil die prozentuale Wasserresorption gegen null geht. Wie aus Abb. 7 zu ersehen ist, sind bei etwa 7 mm Tubuluslänge angestrebtes und errechnetes Harnsäurekonzentrationsgleichgewicht identisch. Ab diesem Punkt nimmt - wegen des weiterhin sinkenden angestrebten Gleichgewichtes - auch die luminale Konzentration ab, und nähert sich wie diese dem unter Gleichgewichtsbedingungen in Perfusionsexperimenten gefundenen Gleichtgewicht. Unter Frei-Fluß-Bedingungen wird der Schnittpunkt des Konzentrationsprofils mit der Funktion des angestrebten Konzentrationsgleichgewichtes im proximalen Konvolut nicht mehr erreicht. Bei stop-flow Untersuchungen jedoch, wenn die Kontaktzeit im proximalen Tubulus erhöht ist und die Anwesenheit osmotisch wirksamer, aber nicht resorbierbarer Teilchen der Wasserresorption eine Grenze setzt, kann sich das unter Perfusionsbedingungen gefundene Konzentrationsgleichgewicht einstellen.

3. Zu Beginn des proximalen Tubulus steigt die aktuelle Menge an Harnsäure im Lumen an, da die Sekretionsrate die gleichzeitige Resorption übertrifft (vgl. auch Abb. 7). Durch Zunahme der luminalen Konzentration an Harnsäure und damit auch der unidirektionalen Resorption wird allerdings bald der Punkt erreicht, bei welchem Sekretionsflux und Resorptionsflux gleich sind (vgl. Punkt 1). Ab diesem Punkt, der bei ca. 3 mm erreicht ist (vgl. Abb. 7), nimmt die Harnsäuremenge wieder ab, obwohl die Konzentration weiter ansteigt. Am Ende des proximalen Konvolutes beträgt die Harnsäuremenge noch das 1,2-fache der filtrierten Menge. Bei ca. 7 mm würde die vorhandene Harnsäuremenge gleich der filtrierten Menge sein. Da aber nur die ersten 5 mm des proximalen Tubulus der Punktion zugänglich sind, wir also keine Meßwerte aus den weiteren 2 mm haben, können wir keine Aussagen über die genaue Lage dieses Punktes treffen.

Abb. 7

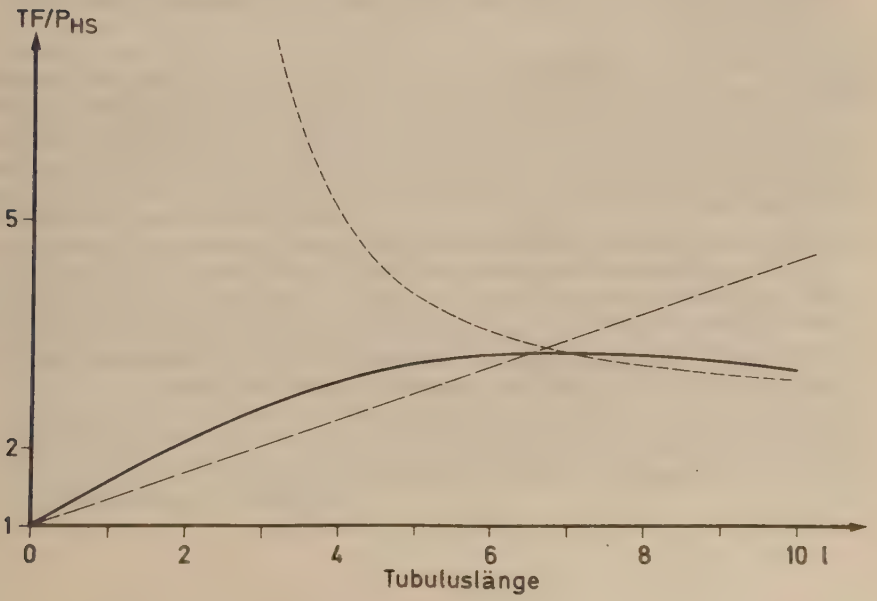
Charakteristik des Konzentrationsprofils von Harnsäure bezogen auf die Plasmakonzentration entlang der Tubuluslänge bei freiem Fluß: Die Abbildung zeigt drei Funktionen:

1. grob gestrichelt: Der lineare Anstieg von TF/P Inulin gegen die Länge;
2. fein gestrichelt: Das längenabhängige Konzentrationsgleichgewicht für Harnsäure (Lumen-Plasma, siehe Text);
3. ausgezogen: Konzentrationsprofil für Harnsäure im proximalen Tubulus unter frei-Fluß-Bedingungen.

Der Verlauf dieser Funktionen ist bis zu einer Tubuluslänge von 10 mm extrapoliert, obwohl die Länge der proximalen Konvolute nur ca. 5 mm bei den Versuchstieren erreicht. Diese Auftragung erscheint aus zwei Gründen nützlich:

1. Es wird die Charakteristik des Konzentrationsprofiles besser verdeutlicht: man erkennt den parallelen Verlauf zur Inulingeraden (Nettoflux Harnsäure = 0, siehe Text) bei drei Millimetern, den Schnittpunkt mit der Inulingeraden (die tubuläre Harnsäuremenge sinkt unter das filtrierte Load) bei ca. 6,5 mm, und schließlich den Schnittpunkt mit der Funktion für das Konzentrationsgleichgewicht (hier erreicht die luminale Konzentration ihren Höchstwert) bei ca. 7 mm.

2. Kann eine Kontaktzeitvergrößerung durch Rückstau (stop flow) bereits bei kleineren Längen Verhältnisse schaffen, wie sie normalerweise erst bei 10 mm - also gar nicht - erreicht werden.



4.6. Harnsäurebehandlung in verschiedenen Nephronabschnitten:

Wenn man die erwähnten Befunde betrachtet, muß man das Vorhandensein einer proximalen Nettoresorption unter den Bedingungen des freien Flusses bezweifeln. Da aber die auch bei der Ratte geringe ausgeschiedene Harnsäuremenge im Vergleich zum filtrierten Load ($^{+}7$) in der Bilanz eine überwiegende Resorption fordert, muß auch distal des proximalen Konvolutes noch eine Resorption von Harnsäure stattfinden. Das distale Konvolut scheint nicht in Frage zu kommen, da mehrere Autoren mit Hilfe von Perfusionsmethoden (81) und Stop-flow-Untersuchungen (42, 53, 86) dort annähernde Impermeabilität für Harnsäure gefunden haben. Eine nennenswerte Permeabilität des distalen Tubulus für Harnsäure ist auch aus theoretischen Überlegungen unwahrscheinlich, da Vergleiche zwischen Permeabilitäten für verschiedene Substanzen (5, 59) zu dem Schluß geführt haben, daß der distale Tubulus zwar die gleiche Anzahl von Poren, aber bedeutend kleinere Porienradien besitzen soll als der proximale Tubulus. Für das relativ große Molekül Harnsäure (im Vergleich zu Harnstoff oder sogar Wasser) ist eine Permeation daher praktisch auszuschließen. Nach stop-flow Untersuchungen soll diese schlechte Durchlässigkeit für Harnsäure auch im Sammelrohr bestehen. Als letzte mögliche Resorptionsstätte für Harnsäure bleibt somit die Henle' sche Schleife. Untersuchungen mit einer anderen organischen Säure von sogar noch größerem Molekulargewicht als Harnsäure (66) deuten darauf hin, daß im Bereich der Henle'schen Schleife wahrscheinlich in dem mit dünnem Epithel ausgekleideten Abschnitt eine größere Durchlässigkeit für organische Säuren besteht als im proximalen Tubulus. Es kann daher auch für Harnsäure angenommen werden, daß sie während der Passage durch die Henle'sche Schleife den Tubulus verläßt, zumal dort durch die Resorption von Tubulusflüssigkeit ständig ein Gradient für den Ausstrom von Harnsäure aufrecht erhalten bleibt.

Aufgrund dieser Befunde ergibt sich folgendes Bild für die renale Behandlung der Harnsäure: Zu der glomerulär filtrierten Harnsäure wird im Verlauf des proximalen Konvolutes weitere Harnsäure hinzusezerniert. Gleichzeitig findet eine Resorption dadurch statt, daß Harnsäure aus der Tubulusflüssigkeit in das Interstitium durch wahrscheinlich einfache Diffusion zurückfließt. Die Harnsäuremenge am Ende des proximalen Tubulus (bzw. Konvolutes) liegt noch um 20% höher als das filtrierte Load ($^{+}7$). Durch die in der Henle'schen Schleife weiterlaufende Resorption - vorallem wohl in Nephronen mit langen dünnen Schleifenanteilen - wird der Harnsäure-Gehalt der Tubulusflüssigkeit weiter vermindert. Im distalen Konvolut und Sammelrohr wird bei der dort geringen Permeation für Harnsäure der Harnsäuregehalt in der Tubulusflüssigkeit nur wenig geändert, so daß in der Bilanz im Endharn Harnsäure in der Größenordnung von etwa 40% des filtrierten Loads ausgeschieden wird.

4.7. Interpretation früherer Befunde:

Die aus unseren Befunden entwickelte Vorstellung über die renale Harnsäurebehandlung steht in deutlichem Gegensatz zu den bisher vertretenen Theorien, daß bei Tieren, bei welchen die Harnsäureclearence unter der Inulinclearence liegt (wie Hund, Mensch und Ratte), eine überwiegende proximale Resorption für diese niedere Clearence verantwortlich zu machen ist. Die Befunde, die zu der ursprünglichen Theorie geführt haben, wurden praktisch ausschließlich durch die stop-flow-Technik gewonnen. Daher stellt sich zwangsläufig die Frage, ob die stop-flow-Ergebnisse unserer Vorstellung tatsächlich widersprechen:
Bei solchen stop-flow-Experimenten wird während einer starken osmotischen Diurese der Urether abgeklemmt. Die Anwesenheit osmotisch wirksamer, aber schwer resorbierbarer Teilchen (z.B. Mannitol) führt dazu, daß sich im Verlaufe einiger Minuten die jeweilige Natriumgleichgewichtskonzentration in den einzelnen Tubulusabschnitten einstellen und dadurch auch die Nettowasserresorption zum Stillstand kommt. Es wird dann keine neue Flüssigkeit mehr in den Tubulus filtriert. Aus der verlängerten Kontaktzeit der Tubulusflüssigkeit in den einzelnen Nephronabschnitten erhofft man sich Rückschlüsse auf die speziellen Transporteigenschaften der entsprechenden Segmente. Ein Stillstand der Tubulusströmung wird bei diesem Verfahren zuletzt im proximalen Konvolut erreicht. Die dort zunächst noch immer nachfiltrierte Flüssigkeit erfährt bei immer länger werdender Kontaktzeit noch eine Volumeneinengung.
Bei den von uns diskutierten stop-flow-Experimenten wurde in den aus proximalen Segmenten Proben ein U/P Creatinin (entspricht dem Inulin) von ca. 3 gemessen (42, 86). Da gegen Ende der Uretherabklemmung kaum mehr Wasserresorption stattfindet (siehe oben), sollte nach unseren Befunden das unter den Perfusionsbedingungen gefundene Konzentrationsgleichgewicht für Harnsäure angestrebt werden. Somit wäre im proximalen Konvolut ein TF/P Harnsäure/TF/P Creatinin-Quotient von 2,5/3, also 0,8 zu erwarten. Die Quotienten lagen bei YÜ (81) um 0,7 $\pm$ 0,2, bei MUDGE (53) und bei KESSLER (42) etwa um 0,5 (entspricht einem TF/P von Harnsäure um 1,5, bzw. 2,1 bei YÜ). MUDGE gibt außerdem an, daß bei 80% seiner stop-flow-Experimente (bei denen z.T. die Harnsäuresekretion gehemmt wurde) das TF/P Harnsäure in Proben, die dem proximalen Konvolut zugeordnet wurden, über 1,2 lag.

Daß diese Werte etwas unter dem von uns angegebenen Konzentrationsgleichgewicht liegen, mag folgendermaßen erklärt werden:
1. Es ist nicht auszuschließen, daß beim Hund, bei dem die stop-flow-Experimente ausgeführt wurden, ein anderes Konzentrationsgleichgewicht besteht, als bei der Ratte.
2. Bei der Trennung der einzelnen Flüssigkeitsteile können Proben aus der Henle'schen Schleife dem proximalen Konvolut zugeordnet worden sein. Als Kriterium für proximale Proben wird bei solchen Experimenten der Ort der PAH-Sekretion gewählt. Nach neueren Befunden (12) ist aber gerade die bereits zur Henle'schen Schleife zugehörige pars recta des proximalen Tubulus in besonderer Weise zur PAH-Sekretion befähigt.

3. Die im proximalen Konvolut gestaute Flüssigkeit muß, bevor sie zur Analyse gelangt, zunächst noch das ganze distale Nephron passieren. Hierbei wird noch etwas Wasser resorbiert. Stärker dürfte allerdings die Resorption von Harnsäure sein, da die Bedingungen für eine Harnsäureresorption in der Henle'schen Schleife bei stop-flow besonders günstig sind. Während des Staus kann nämlich die normalerweise in der Papille relativ hohe Harnsäurekonzentration (siehe auch später) gut abgebaut werden.

Da die beiden letztgenannten Möglichkeiten dazu führen, daß der bei stop-flow gefundene Wert kleiner ist als das tatsächliche Konzentrationsgleichgewicht, kann wohl angenommen werden, daß das Konzentrationsgleichgewicht auch beim Hund über 1 und nicht viel kleiner ist als das bei der Ratte.

Die bei stop-flow zutage tretende Nettoresorption im proximalen Konvolut ist beim Hund unter Frei-Fluß-Bedingungen wahrscheinlich ebensowenig vorhanden wie bei der Ratte.

4.7.2. Andere Befunde: Anhand der entwickelten Vorstellung können nun verschiedene Befunde in der Literatur zwangloser als bisher erklärt werden: Die Beobachtung, daß sowohl beim Menschen als auch beim Hund die Harnsäurekonzentration an der Papille bedeutend höher liegt als in der Rinde (14, 24) - ein Befund, der bei Annahme proximaler Harnsäureresorption und dadurch niederen Konzentrationen in der Henle'schen Schleife unverständlich wäre - kann nun durch die schon in der Henle'schen Schleife hohe Harnsäurekonzentration und den Austritt von Harnsäure in das Gewebe im Schleifenbereich erklärt werden. Auch die Beobachtung, daß bereits in der Henle'schen Schleife und sogar am Ende des proximalen Konvolutes Harnsäureablagerungen entstehen können, ist bei einer proximalen Nettosekretion eher verständlich als bei einer proximalen Nettoresorption (89).

Die Beobachtung, daß durch osmotische Diurese die Harnsäureausscheidung vermehrt wird (36, 46), kann dadurch erklärt werden, daß, erstens durch die verminderte Wasserresorption die Harnsäurekonzentrierung durch Volumenentzug vermindert wird, und somit der Gradient für eine Resorption sinkt, und zweitens, daß durch Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit in der Henle'schen Schleife die Kontaktzeit und damit die dortige Resorption verringert wird.

4.7.3. Pharmaka: Die Wirkung von Pharmaka, soweit sie die Harnsäureausscheidung vermindern (z.B. Pyrazinamid (85), Hydrochlorothiazid (40), Acetazolamid (4, 35) oder kleine Dosen von Salicylat (26, 83), Chlorothiazid (21, 55, 58, 78), Aspirin (44) und andere mehr (34, 77)), kann durch Hemmung der Harnsäure-Sekretion erklärt werden. Dafür spricht, daß von den meisten dieser Stoffe oder chemischer Verwandter bekannt ist (22), daß sie über den Transportprozeß für organische Säuren sezerniert werden, also für eine kompetitive Hemmung der Harnsäuresekretion in Frage kommen.

Die Wirkung von Pharmaka, die uricosurisch wirken, also die Harnsäureausscheidung fördern (z.B. Zoxazolamin (13), Dicoumarol (25, 39), Benziodarone (10), Probenecid (38, 39), Brenzbromaronum (48, 88), Phenolsulphonphthalein (83) und andere mehr (27, 64)), kann allerdings nicht ohne weiteres erklärt werden. Eine Erklärungsmöglichkeit ergäbe sich dann, wenn Harnsäure einmal einer Gegenstromdiffusion in der Henle'schen Schleife unterliegen und zum anderen der Abtransport aus der Henle'schen Schleife durch die vasa recta teilweise durch eine vorübergehende Proteinbindung erfolgen würde. Das ist durchaus vorstellbar, da die von ALVSAKER (1, 2, 3) beschriebene Proteinbindung von Harnsäure der Plasmakonzentration (bis zu 10 mg%) proportional ist und in der Henleschen Schleife - durch die dort herrschenden hohen Harnsäurekonzentrationen - zusätzlich, neben der bei normalem Plasmaspiegel gebundenen, Harnsäure an die Plasmaproteine konjugiert werden kann. Die Voraussetzungen für eine solche Proteinbindung sind auch insofern in der Henleschen Schleife günstig, da durch den Volumenentzug aus den vasa recta die Proteine besonders konzentriert sind.

Nun ist von organischen Säuren wie Probenecid bekannt, daß sie eine besonders hohe Proteinbindung besitzen. Eine kompetitive Hemmung der Bindung von Harnsäure an die Plasmaproteine durch die Uricosurica würde zur Akkumulation von Harnsäure in der Henle'schen Schleife führen. Die erhöhte Konzentration von Harnsäure im Gewebe würde zu einem verminderten Ausstrom aus der Schleife führen und somit die Ausscheidung verstärken.

Eine Erhöhung der Konzentration an Harnsäure im vasa-recta-Blut (durch Harnsäureinfusionen) über 10 mg%, also über die Sättigung der Bindung hinaus, würde zu keiner vermehrten Harnsäurebindung an die Proteine mehr führen, der Harnsäureabtransport aus der Papille durch die Proteine würde also bei steigendem Filtrat und steigender Zufuhr über die vasa recta konstant bleiben. Die erfolgende Akkumulation von Harnsäure in der Nierenpapille würde auch hier wieder die Resorption vermindern. Somit wird auch der Befund verständlich, daß bei Harnsäureinfusion die Clearence für Harnsäure steigt (84, 63, 46) . Dieser Befund hatte bereits zu der Theorie geführt, daß die (aktive) Harnsäureresorption ein Transportmaximum aufweisen soll (9, 7).

Obwohl die eben hergeleitete Hypothese die erwähnten Befunde sehr plausibel erklären kann, muß sie mit großen Vorbehalten vorgebracht werden, da bisher nur sehr indirekte Hinweise dafür sprechen.

4.8. Die Unterschiede zwischen den Tierspezies:

Die Verschiedenheit der Clearences bei den unterschiedlichen Tiergruppen könnte dadurch erklärt werden, daß das Ausmaß der Harnsäuresekretion oder die Permeabilität des proximalen Konvolutes und der Henle'schen Schleife verschieden groß ist. Für die Unter-

schiedlichkeit der Sekretionsstärke gibt es bereits einen Hinweis: Die Akkumulation von Harnsäure in Nierenschnitten ist bei Hühnern, Kaninchen und Meerschweinchen deutlich, bei Mensch, Huhn und Ratte dagegen nicht erkennbar (61). Daß eine Sekretion aber auch bei den letzteren Tieren vorhanden ist, konnte für den Hund (53, 87), den Menschen (62) und nun auch für die Ratte gezeigt werden. Dabei ist es sehr wahrscheinlich, daß entgegen früheren Vermutungen (86, siehe auch Diskussion der stop-flow-Befunde) die Harnsäuresekretion im proximalen Tubulus auch des Menschen und des Hundes bei einem kleinen Nettogradienten (luminale Konzentration gegen Plasmakonzentration) die Resorption überwiegt.

Somit bestünden in der Harnsäurebehandlung der Niere bei den verschiedenen Tierspezies keine prinzipiellen (qualitativen) Unterschiede, sondern nur Unterschiede quantitativer Art.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der Mikroperfusionstechnik wurden verschieden lange Abschnitte von proximalen Tubuli einzelner Nephren untersucht. Dabei war es möglich, die unidirectionalen Fluxe für Harnsäure getrennt zu analysieren.

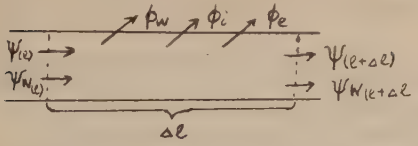
Es zeigt sich, daß der proximale Tubulus der Rattenniere befähigt ist, Harnsäure sowohl zu resorbieren als auch zu sezernieren. Bei gleichen Gradienten übertrifft die Sekretionsrate die Resorption um den Faktor 2,5. Die Sekretionsrate war in dem untersuchten Bereich (Plasmakonzentrationen bis zum 3-fachen der normalen Größe) der Plasmakonzentration, die Resorptionsrate der luminalen Konzentration (im Bereich von frühproximalen bis zum 2-fachen der endproximalen Werte bei normalen Bedingungen, i.e. freier Fluß) proportional.

Eine Berechnung des Konzentrationsprofiles unter den Bedingungen des freien Flusses über die bei den Mikroperfusionsexperimenten gewonnenen Werte zeigte im Vergleich zu Meßwerten unter frei-Fluß Bedingungen zufriedenstellende Übereinstimmung. Aufgrund dieser Befunde wird die Vorstellung entwickelt, daß Harnsäure im proximalen Tubulus nettosezerniert wird, und daß die Harnsäureausscheidung durch Resorption in der Henle'schen Schleife vermindert wird.

Durch diese Vorstellung können auch Befunde anderer Autoren befriedigend erklärt werden.

6. ANHANG

6.1 mathematischer Anhang



$\psi_{(e)}$ = Harnsäurefluß (mol/mm^2 min)
$\phi_{e,i}$ = Harnsäureflux (mol/mm^2 min)
$\psi_{w(e)}$ = Wasserfluß (ml/mm^2 min)
ϕ_w = Wasserflux (ml/mm^2 min)

Aufgrund des Massenerhaltungsgesetzes für den Tubulus(28) können wir formulieren:

$$(\psi_{(e)} - \psi_{(e+\Delta e)})\pi r^2 = 2\pi r \Delta e\,(\phi_i - \phi_e)$$

oder für: $\phi_e - \phi_i = \phi_{(e)}$

(1) $$d\psi_e/de = -\frac{2}{r}\phi_{(e)}$$

Die Konzentration im Tubulus ist:

(2) $$C = \frac{\psi_{(e)}}{\psi_{w(e)}}$$

Daraus folgt:

(2') $$\frac{d\psi_{(e)}}{de} = C\frac{d\psi_{w(e)}}{de} + \psi_{w(e)}\frac{dc}{de}$$

(2') in (1) ergibt:

(3) $$\frac{dc}{de}\psi_{w(e)} + C\frac{d\psi_{w(e)}}{de} = -\frac{2}{r}\phi_{(e)}$$

ϕ_e ist, wie gezeigt wurde, der luminalen Konzentration proportional. Proportionalitätsfaktor ist nach dem Fick'schen Gesetz(dn/dt=P F C, dn/dtF= =P C) die Permeabilität des Tubulusepithels für HS in outflux-Richtung:

$$\phi_e = P_e \cdot C_{(e)}$$

Für ϕ_i wurde gezeigt, daß es unabhängig ist von der luminalen Konzentration. Da die übrigen Parameter während eines Experimentes konstant angenommen werden, gilt:

$$\phi_i = \phi = konst.$$

Formel (3) kann nun folgendermaßen geschrieben werden:

(3') $$\frac{dc}{de}\psi_{w(e)} + C_{(e)}\frac{d\psi_{w(e)}}{de} = \frac{2}{r}\phi_i - \frac{2}{r}P_e \cdot C_{(e)}$$

A) Berechnung von Perfusionsergebnissen mit Gleichgewichtslösung(keine Wasserfluxe)

$$\psi_w = konst. \qquad \frac{d\psi_w}{de} = 0$$

(3') wird somit vereinfacht zu:

(4) $$\frac{dc}{de} = \frac{2\phi_i}{2\psi_w} - \frac{2P_e}{r\psi_w}C_{(e)}$$

oder

(4') $$\frac{dc}{de} = k - aC_{(e)} \quad ; \; k = \frac{2\phi_i}{r\psi_w} \; ; \; a = \frac{2P_e}{r\psi_w}$$

Integration von Formel (4') führt zu:

(5) $$C = \frac{k}{a} + \frac{aC_c - k}{a}\cdot e^{-ae}$$

wobei C_c die Konzentration bei $X_o = 0$ ist. Wenn $C_c = 0$ ist, (in Serie 2 und die unmarkierte Harnsäure in Serie 3) dann gilt:

(6) $$C = \frac{k}{a}(1 - e^{-ae})$$

Wenn k der Plasmakonzentration proportional ist, $k = b\,c_p$, dann gilt:

$k = \frac{2\phi_i}{r\psi_w}$ sowie $\phi_i = P_i \cdot c_p$ (analog zur Resorption), und: $b = \frac{2P_i}{r\psi_w}$

B) Berechnung von Konzentrationen an Harnsäure unter frei-Fluß-Bedingungen:

$\psi_w = \psi_{w(\ell)} \quad \frac{d\psi_w}{d\ell} \neq 0$

Die bei den Harnsäureuntersuchungen unter freiem Fluß beobachteten Inulinwerte über die Länge, legen eine folgende TF/P-Inulin-Korrelation nahe:

(7) TF/P In = 1 + 0,35 l

(TF/P Inulin ist der Quotient aus den Konzentrationen an Inulin in Tubulusflüssigkeit und Plasma)

Daraus folgt, wegen der Impermeabilität des Tubulus für Inulin:

$$\dot{V} = \frac{\dot{V}_o}{1+0{,}35\ell}$$

und bei konstantem Tubulusradius:

(8) $\psi_{w(\ell)} = \frac{\psi_{w_0}}{1+0{,}35\ell}$; ψ_{w_0} = glomerulares Filtrat

Wenn (8) in (3') eingesetzt wird, kann (3') nicht mehr in geschlossener Form integriert werden.

(9) $\frac{dc}{d\ell} = \left[\frac{2\phi_i}{r\psi_{w_0}} - \frac{2P_e}{r\psi_{w_0}} c_{(\ell)}\right](1+m\ell) + \frac{m c_{(\ell)}}{1+m\ell}$

oder:

(9') $\frac{dc}{d\ell} = \left[b' c_p - a' c_{(\ell)}\right](1+m\ell) + \frac{m c_{(\ell)}}{1+m\ell}$

Allerdings ist die Berechnung des Konzentrationsprofiles im proximalen Tubulus schrittweise möglich, wenn man die einzelnen Schritte möglichst klein wählt, mit genügender Genauigkeit. Das Ergebnis einer solchen Berechnung zeigen Abb. 6 und 7.

Ferner sind noch folgende Charakteristika der Formel aufschlußreich:

Wenn in Formel (9) $c_{(\ell)} = \frac{b'}{a'} c_p$ ist, dann wird die Formel zu:

(10) $\frac{dc}{d\ell} = \frac{m c_{(\ell)}}{1+m\ell}$

Der Anstieg der luminalen Konzentration gleicht in diesem Punkte der Inulingeraden: $\frac{d[\text{In}]}{d\ell} = \frac{m[\text{In}]_{(\ell)}}{1+m\ell}$

die Funktion verläuft also der Inulingeraden parallel.

dc/dl = 0, wenn:

(11) $c_{(\ell)} = \frac{b' c_p}{a' - \frac{m}{(1+m\ell)^2}}$

Das tatsächliche Konzentrationsprofil zeigt ständig die Tendenz, der Funktion (11) entgegenzustreben.

$c_{(\ell)}$ in Formel (11) kann als "dynamisches Konzentrationsgleichgewicht" unter frei-Fluß-Bedingungen dem "statischen Konzentrationsgleichgewicht"

$$c_{(\ell)} = \frac{b'}{a'} c_p$$

unter Perfusionsbedingungen gegenüber gestellt werden.

Die Funktion (11) ist in Abb. 7 graphisch dargestellt.

6.2. Begriffserläuterungen:

+1 Unter der Clearence einer Substanz versteht man dasjenige Plasmavolumen, das während der Nierenpassage von dem betreffenden Stoff befreit wird. Es läßt sich errechnen aus dem Quotienten zwischen der Urinkonzentration und der Plasmakonzentration mald dem Urinvolumen.

+2 Inulin wird nur filtriert und weder resorbiert noch sezerniert (33). Daher ist die Inulinclearence identisch mit dem Filtratvolumen. Eine Clearence von Harnsäure, die über der von Inulin liegt, bedeutet also, daß im Verlaufe des Nephron irgendwo Harnsäure sezerniert worden sein muß.

+3 Der Begriff Nettosekretion geht von der Überlegung aus, daß gleichzeitig ein Resorptionsflux (siehe +5) und ein Sekretionsflux bestehen kann. Sichtbar ist aber nur die Differenz beider Fluxe, der Nettoflux.

+4 Schnitte von corticalem Nierengewebe können verschiedene Substanzen akkumulieren. Diese Akkumulation wird als Indiz dafür aufgefaßt, daß für die betreffenden Substanzen ein aktiver Sekretionsmechanismus besteht.

+5 In dieser Arbeit werden Fluxe in Richtung der Tubulusachse als Flüsse und solche über das Tubulusepithel hinweg als Fluxe bezeichnet.

+6 Das Volumen des Zellmantels von einem Tubulussegment läßt sich aus dem Zellflächenquerschnitt (1000 μ^2 (76)) und der Länge des Segmentes (z.B. 1 mm) berechnen, es beträgt etwa 1 nl (pro Segmentlänge). In 10 Minuten Perfusionsdauer strömen 200 nl durch den Tubulus, also eine Harnsäuremenge von 200 $c_{(l)}$ (nl mmol/nl). Davon wird innerhalb einer Perfusionsstrecke von 1mm rund 1/5 tel resorbiert, also 40 nl $c_{(l)}$. Selbst wenn das ganze Zellvolumen als Lösungsraum für permeierende Harnsäure zur Verfügung steht - was unwahrscheinlich ist - und die Konzentration in der Zelle diejenige im Lumen erreicht, errechnet sich die in den Zellen verbliebene Harnsäuremenge zu 1 $\cdot c_{(l)}$. Die in den Zellen verbliebene Harnsäuremenge beträgt dann nur 2,5% der insgesamt resorbierten Menge.

+7 Filtriertes Load ist die pro Zeiteinheit über das Glomerulum in das proximale Konvolut eintretende Substanzmenge.

+8 Frei-Fluß-Experimente sind Versuchsanordnungen, bei denen darauf geachtet wird, daß durch die Punktion des Tubulus die Strömungsverhältnisse im Nephron möglichst unbeeinflußt bleiben.

6.3. Abkürzungen

TF/P = Quotient aus den Konzentrationen in Tubulusflüssigkeit und Plasma

(HS) = Harnsäurekonzentration in der Tubulusflüssigkeit $(HS)_{TF}$, in der Perfusionslösung $(HS)_{Perf}$ und im Plasma $(HS)_P$

l = Länge der Perfusionsstrecke

$(HS)^+$ = Konzentration an radioaktiver Harnsäure

(In) = Inulinkonzentration

Tabelle II

Serie I, Abfall ^{14}C-markierter Harnsäure entlang des Tubulus.

Exp.	Probe	Harnsäure in Probe HS s	Perf.F. HSperf.	HSperf -HS s / HS	HS 100 / HSperf. %	Länge mm	a/mm -1
I	1	244	274	30	11,0	0,5	0,24
II	2	254	280	26	9,1	0,45	0,21
	3	262	280	18	6,6	0,3	0,21
	4	252	280	28	10,2	0,5	0,22
III	5	42	51	9	7,3	0,8	0,24
	6	46	51	5	10,3	0,6	0,18
IV	7	61	107	46	42,8	1,7	0,33
	8	59	107	48	44,8	2,7	0,22
	9	68	107	39	36,3	1,8	0,25
V	110	61	107	40	39,1	1,3	0,38
	11	68	101	33	32,3	1,1	0,36
VI	12	52	60	8	23,9	1,4	0,11
	13	56	60	4	7,1	0,7	0,11
VII	14	50	60	10	16,4	1,3	0,14
	15	56	60	4	6,4	0,74	0,09
	16	55	60	5	7,8	0,75	0,10
VIII	17	81	98	17	17,5	1,5	0,13
IX	18	71	91	20	21,8	1,5	0,16

alle Konzentrationsangaben in /umol/l

Serie II: Anstieg der luminalen Konzentration an unmarkierter Harnsäure

Exp.	Probe	Harnsäure in Plasma HS pl	Probe HS s	HS s 100 / HS p %	Länge mm	b mm^{-1}
I	1	278	105	37,6	1,1	0,38
II	2	192	77	40,7	1,7	0,28
	3	223	223	100,0	2,05	0,58
III	4	168	60	35,4	1,25	0,32
	5	170	80	47	1,2	0,44
	6	170	60	35	0,9	0,43
	7	167	146	87	2,5	0,46
IV	8	345	137	39,5	0,65	0,64
	9	548	75	13,8	0,2	o,69
V	10	99	54	54	1,0	0,59
	11	191	93	48,5	1,35	0,40
VI	12	176	83	47,5	0,8	0,64
	13	187	101	54	2,3	0,29
VII	14	149	116	78	1,25	0,71
	15	179	77	42,5	2,2	0,23
	16	203	116	57,5	2,0	o,34
VIII	17	208	113	54	1,3	0,47
	18	214	89	41,5	1,0	0,45
IX	19	89	36	40	1,0	0,44
	20	89	48	53,5	1,25	0,48
	21	89	29	30	1,3	0,26
	22	89	60	75	1,2	0,70
	23	89	95	106,0	2,5	0,53

alle Konzentrationsangaben in /umol/l

Tabelle IV

Serie III.:Gleichzeitige Bestimmung des Abfalls an radioaktiv markierter Harnsäure und des Anstiegs der Konzentration an unmarkierter Harnsäure im Tubuluslumen.

Exp.	Pr.	markierte HS* in Perf.F. HSperf	Probe HS* s	HSperf -HS* s / HS	HS* 100 / HSperf %	total HS in Probe	unmarkierte HS in Probe HS s	Plasma HS pl	HS s 100 / HS pl %	Länge mm	a mm^{-1}	b mm^{-1}
I	1	238	154	84	35	208	54	73	74	2,6	0,17	0,36
	2	241	191	50	20,8	212	21	73	29	1,25	0,19	0,50
	3	233	129	104	44,5	194	65	73	89	2,5	0,24	0,44
II	4	86	73	13	15,2	122	49	67	73	1,9	o,o9	o,45
	5	90	73	17	18,7	137	64	67	95	1,7	0,12	0,65
	6	95	78	17	17,1	98	20	67	30	0,95	0,20	0,34
	7	90	74	16	17,9	122	48	67	72	1,75	0,11	0,48
III	8	85	65	20	23,4	113	48	81	59	1,95	o,14	0,36
	9	91	77	14	15,2	107	30	64	47	1,55	0,11	0,35
IV	10	98	89	9	8,6	98	9	60	15	o,7	0,13	0,23
	11	100	94	6	18,1	109	15	68	22	0,36	0,17	0,65
V	12	62	51	11	5,7	191	150	208	72	1,1	0,18	0,72
	13	62	49	13	21,2	244	195	238	82	2,3	0,10	0,43

all concentration values in µmol/l

Tabelle V

Serie IV: Konzentrationsgleichgewicht

Exp.	Probe	Harnsäure in Perf.L. HS_{Perf}	Plasma HS_{pl}	Probe HS_s	$\frac{HSperf\ 100}{HSpl}$ %	$\frac{HSs\ 100}{HSpl}$ %	Länge mm
I	1	241	73	217	330	297	0,5
	2	239	73	214	313	293	1,0
II	3	85	48	95	177	198	0,8
	4	88	48	110	183	229	0,5
III	5	91	82	149	111	182	2,0
IV	6	90	77	98	117	127	1,9
	7	86	73	98	118	134	1,5
VI	8	86	62	119	139	190	1,5
VII	9	113	68	134	166	197	1,0
	10	117	68	126	172	185	0,8
	11	112	68	124	166	182	0,6
	12	86	68	146	127	215	0,5
VIII	13	202	86	179	235	208	0,8
	14	202	86	196	235	228	1,0
	15	202	86	185	235	215	0,5
	16	202	86	175	235	203	0,5
	17	92	86	128	107	149	0,8
	18	92	86	126	107	147	1,5
	19	236	86	223	274	259	1,0
	20	236	86	232	274	270	0,4

alle Konzentrationsangaben in /umol/l

7. LITERATURVERZEICHNIS

(1) ALVSAKER, J.O.:
Uric acid in human plasma III Investigations on the interaction between the unrate ion and human albumin.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 17 467 (1965)

(2) ALVSAKER, J.O.:
Uric acid in human plasma. IV Investigations on the interaction between urate and the macromolecular fraction in plasma from healthy individuals and patients with deseases associated with hyperuricemia.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 17 476 (1965)

(3) ALVSAKER, J.O.:
Uric acid in human plasma. V. Isolation and identification of plasmaproteins interacting with urate.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 18 1 (1966)

(4) AYVAZIAN, J.H. and L.F. AYVAZIAN:
A study of the hyperuricemia induced by hydrochlorothiazide and avetazolamide separately and in combination.
J. clin Invest. 40 1961 (1961)

(5) BAUMANN, K., R. PETERS, F. PAPAVASSILIOU:
Diffusion von Nichtelektrolyten und Berechnung von äquivalenten Porenradien im proximalen Konvolut der Rattenniere.
Pfl. Arch. 294 221 (1967)

(6) BAUMANN, K H. OELERT und H. SONNENBERG:
pH-abhängige Diffusion organischer Substanzen im proximalen Konvolut der Rattenniere.
3. Symp. Ges. Nephr. 167 (1964)

(7) BERGER, L., T.F. YÜ and A.B. GUTMAN:
Renal excretion of urate loads in gouty and nongouty man.
Fed. Proc. 21 434 (1962)

(8) BERGER, L., T.F. YÜ, A. ALSMON, S. KUPFER and A.B. GUTMAN:
Effect of reducing renal arterial blood pressure by balloon catheter on urate excretion in the dog.
Proc. Soc. exp. Biol. 115, 5 (1964)

(9) BERLINER, R.A., J.G. HILTON, T.F. YÜ and T.J. KENNEDY jr.:
The renal mechanism for urate excretion in man.
J. clin. Invest. 29 396 (1950)

(10) BIANCO, R., R. MARCOLONGO jr., CARCASSI, A.:
Il benziodarone nel trattamento delle iperuricemie primitive.
Minerva Med. 59 5470 (1968)

(11) Bott, P.A.:
Renal excretion of creatinine in necturus.
Am. J. Phys. 168, 107 (1952)

(12) BURG, M.B. and J. ORLOFF:
p-Aminohippurate uptake and exchange by seperated renal tubules.
Am. J. Physiol. 217 1064 (1969)

(13) BURNS, J.J., T F. YÜ, L. BERGER, A.B. GUTMAN:
ZOXAZOLAMINE, physiological Disposition, uricosuric properties.
Am. J. Med. 25 401 (1958)

(14) CANNON, P.J., P.S. SYNCHYCH and F.E. DEMARTINI:
The distribution of urate in human and primate kidney.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 129 278 (1968)

(15) CHASIS, H., J. REDISH, W. GOLDRING, A. RANGES and H.W. SMITH:
The use of sodium p-aminohipputate for the functional evaluation of the human kidney.
J. clin. Invest. 24 583 (1945)

(16) CROSS, R.J. and TAGGART, J.V.:
Renal tubular transport: Accumulation of PAH by rabbit kidney slices.
Am. J. Physiol. 161 181 (1950)

(17) DAVIS, B.B., J.B. FIELD, G.P. RODNAN, L.H. KEDES:
Localisation and pyrazinamide inhibition of distal transtubular movement of UA^{C14} with a modified stop-flow-technique.
J. clin. Invest. 44 716 (1965)

(18) DEETJEN, P.:
Tubulärer Transport schwacher organischer Säuren und Basen.
3. Symp. Ges. Nephr. 19 (1964)

(19) DEETJEN, P., J.W. BOYLAN und B. GERSTEIN:
Mikroperfusionsuntersuchungen an der Rattenniere über die Beziehung zwischen Glukoseresorption und dem Transport von Natrium und Wasser.
6. Symp. Ges. Nephr. (1968)

(20) DEETJEN, P. und J.W. BOYLAN:
Glucose reabsoprtion in the rat kidney.
Pflügers Arch. 299 19 (1968)

(21) DEMARTINI, F.E., E.A. WHEATSON, L.A. HEALEY and J.H. LARAGH:
Effect of chlorothiazide on the renal excretion of uric acid:
Am. J. Med. 32 572 (1962)

(22) DESPOPULOS, A.:
A definition of substrate specifity in renal transport of organic anions.
J. Theor. Biol. 8 163 (1965)

(23) ELSOM, K.A., BOTT, P.A. and SHIELDS, E.H.:
On the excretion of skiodan, diodrast and hippuran by the dog.
Am. J. Physiol. 115 548 (193)

(24) EPSTEIN, F.H. and H. PIGEON:
Experimental Urate Nephropathy. Studies of the Distribution of Urate in renal tissue.
Nephron I 144 (1964)

(25) FLEMMING, C.:
Uricosuric effect of Dicoumarol.
Acta Med. Scand. 175 461 (1964)

(26) FRIEDMANN, M.:
Observations concerning the effects of (1) sodium salicylate and (2) sodium salicylate and glycine upon the production and excretion of Uric acid and allantoin in the rat.
Am. J. Physiol. 152 302 (1948)

(27) FRIEND, D.G.:
Uricosuric drugs.
Practitioner 200 153 (1968)

(28) FUCHS, G.:
Stochastische Modelle in der Nierenphysiologie.
Biometrische Zeitschr. 11/1 25 (1969)

(29) GARROD, P.R., R.R. Mc SWICY and A.M. BOLD:
Investigation of renal excretion of Phosphate and Urate.
Cli. Science 31 9 (1966)

(30) GERTZ, K.H., G.C. KENNEDY und K.J. ULLRICH:
Mikropunktionsuntersuchungen über die Flüssigkeitsrückresorption aus den einzelnen Tubulusabschnitten bei Wasserdiurese.
Pflügers Arch. 278 513 (1964)

(31) GREGER, R., F. LANG und P. DEETJEN:
Handling of Uric Acid in the proximal tubule of the rat kidney. Micropuncture Analysis of tubular Urate concentration during free flow.
Pflügers Arch.

(32) GREGER, R.:
Eine neue Methode zum quantitativen Harnsäurenachweis und ihre Anwendung auf Mikropunktionsuntersuchungen an der Rattenniere.
Inauguraldissertation, München 1972

(33) GUTMAN, Y., C.W. GOTTSCHALK and W.E. LASSITER:
Micropuncture study of inulin absorption in the rat kidney.
Science, 147 753 (1965)

(34) GUTMAN, A.B.:
Uricosuric drugs, with special reference to Probenecid and Sulfinpyrazone.
Adv. Pharm. 4 91 (1966)

(35) GUTMAN, A.B., T.F. YÜ and J.H. SIROTA:
Contrasting effects of bicarbonate and diamox, with equivalent alkalinization of the urine, on salicylate uricosuria in man.
Fed. Proc. 15, 85 (1956)

(36) GUTMAN, A.B., T F. YÜ and L. BERGER:
Tubular secretion of urate in man.
J. clin. Invest. 38 1778 (1959)

(37) GUTMAN, A.B., T.F. YÜ:
Renal function in gout, with a commentary on the renal regulation of urate excretion and the role of the kidney in the pathogenesis of gout.
Am. J. Med. 23 600 (1957)

(38) HAAGENSEN, N.R. and B. NIELSEN:
The effect of Probenecid on renal excretion and plasma level of UA in patients with renal insuffiency.
Acta Pharm. Tox. 18 175 (1961)

(39) HANSEN, O.E. and C. HOLTEN:
Uricosuric effect of dicoumarol.
Lancet 1958/1 1047 (1958)

(40) HEALEY, L.A., B.J. MAGID and J.L. DECKER:
Uric acid retention due to hydrochlorothiazide.
New Engl. J. Med. 261 1358 (1959)

(41) KASHGARIAN, M., H. STÖCKLE, C.W. GOTTSCHALK and K.J. ULLRICH:
Transtubular electrochemical potentials of sodium and chloride in proximal and distal tubules of rats during antidiuresis and waterdioresis.
Pflügers Arch. 277 89 (1963)

(42) KESSLER, R.H., K. HIERHOLZER and R.S. GURD:
Localisation of urate transport in the nephron of mongrel and Dalmatian dog kidney.
Am. J. Physiol. 197, 601 (1959)

(43) KINTER, W.B., A.L. CLINE:
Exchange diffusion and runout of Diodrast I^{131} from renal tissue in vitro.
Am. J. Physiol. 201 309 (1961)

(44) KLEMPERER, F. and W. BAUER:
Influence of aspirin on urate excretion.
J. clin. Invest. 23 950 (1944)

(45) KUHLBÄCK, B.:
Einfluß eines Diureticum (Furosemid) auf den Harnsäurestoffwechsel.
Med. Klin. 60/2 (1965)

(46) LATHEM, W. B.B. DAVIS and G.P. RODNAN:
Renal tubular secretion of uric acid in the mongrel dog.
Am. J. Physiol. 199 9 (1960)

(47) MARSHALL, E.J. jr. and J.L. VICKERS:
The mechanism of the elimination of phenolsulphonphthalein by the convoluted tubule.
Bull. John Hopkins Hosp. 34 1 (1923)

(48) MERTZ, D.P.:
Veränderungen der Serumkonzentration von Harnsäure unter der Wirkung von Benzbromaronum.
Münch. Med. Wschr. 111 491 (1969)

(49) MØLLER, J.V.:
The effects of D- and L-Lactate and osmotic diuresis on uric acid clearence in the rabbit.
Act. physiol. Scand. 54 30 (1962)

(50) MØLLER, J.V.:
The tubular site of urate transport in the rabbit kidney and the effect of probenecid on urate secretion.
Acta pharm. tox. 23 329 (1966)

(51) MØLLER, J.V.:
The relation between secretion of urate and p-amino-hippurate in the rabbit kidney.
J. Physiol. 192 505 (1967)

(52) MØLLER, J.V.:
The renal accumulation of urate and p-amino-hippurate in the rabbit.
J. Physiol. 192, 519 (1967)

(53) MUDGE, G.H., J. CUCCHI, M. PLATTS, J.M.B. O'CONNEL and W.O. BERNDT:
Renal excretion of uric acid in the dog.
Am. J. Physiol. 215 404 (1968)

(54) MUDGE, G.H., B. Mc ALARY and W.O. BERNDT:
Renal transport of uric acid in the guinea pig.
Am. J. Physiol. 214 875 (1968)

(55) NASH, L.H. and W.M. KIRKENDALL:
The effects of chlorothiazide (CTZ) on uric acid (UA) excretion in man.
Fed. Proc. 21 435 (1962)

(56) NECHAY, B.R. and L. NECHAY:
Effects of probenecid, Na-salicylate, 2,4-dinitrophenol and pyrazinamide on renal secretion of uric acid in chickens.
J. Pharm. exp. ther. 126 291 (1959)

(57) OELERT,H., K. BAUMANN und D. GEKLE:
Permeabilitätsmessungen einiger schwacher organischer Säuren aus dem distalen Konvolut der Rattenniere.
Pflügers Arch. 307 178 (1969)

(58) OREN, B.G., M. RICH, M.S. BELLE:
Chlorothiazide (diuril) as a hyperuricacidemic agent.
Am. Med. Ass. 168 2128 (1958)

(59) PETERS, R., K. BAUMANN and H. OELERT:
Diffusion von Wasser im proximalen und distalen Konvolut der Rattenniere.
Pflügers Arch. 294 220 (1967)

(60) PLATTS, M.M., G.H. MUDGE:
The accumulation of UA by rabbit kidney slices in vitro.
Fed. Proc. 19 367 (1960)

(61) PLATTS, M.M. and G.H. MUDGE:
Accumulation of uric acid by slices of kidney cortex.
Am. J. Physiol. 200 387 (1961)

(62) PODEVIN, R., PAILLARD, F., A. HORNYCH, R. ARDAILLON, J. FONTANELLE, G. RICHET:
Cinétique d`apparition dans l`urine de l`acide paraamino-hippurique (PAH) et de l`acide urique 2-^{14}C chez l`homme. Effets de la benziodarone, de l`acide acétyl-salicylique et de la pyrazinamide.
Rev. Française d`études clin. et biol. 13 513 (1968)

(63) POULSON, H., E. PRAETORIUS:
Tubular excretion of uric acid in rabbits.
Acta pharm. tox. 10 371 (1954)

(64) SCHIRMEISTER, J., H. WILLMANN:
Harnsäure und andere Clearences nach intravenöser Gabe von Fursemid.
Klin. Wschr. 42 623 (1964)

(65) SCHNEIDER, W. and R. GREGER:
An improved microcuvette for photometric mesurements.
Pflügers Arch. 311 268 (1969)

(66) SCHNERMANN, J. und K. THURAU:
Die PAH Konzentration im vasa recta-Blut der Goldhamsterniere.
3. Symp. Ges. Nephr. 177 (1964)

(67) SCHNERMANN, M. HORSTER and D.Z. LEVINE:
The influence of sampling technique on the micropuncturs determination of GFR and reabsorptive characteristics of single rat proximal tubules.
Pflügers Arch. 309 48 (1969)

(68) SCHNERMANN, J., H. VALTIN, K. THURAU, W. NAGEL, M. HORSTER, H. FISCHBACH, M. WAHL and G. LIEBAU:
Micropuncture studies on the influence of antidiuretic hormone on tubular fluid reabsorption in rats with heriditary Hypothalamic diabetes insipidus.
Pflügers Arch. 306 103 (1969)

(69) SHANNON, J.A.:
The excretion of uric acid by the chicken.
J. cellular Comp. Physiol. 11 135 (1938)

(70) SKEITH, M.D., L.A. HEALEY and R.E. CUTTLER:
Urate excretion during mannitol and glucose diuresis.
J. Lab. clin. Med. 70 213 (1967)

(71) SMITH, H.W., W. GOLDRING and H. CHASIS:
The mesurement of the tubular excretory mass, effective blood flow and filtration rate in normal human kidney.
J. clin. Invest. 17 263 (1938)

(72) SONNENBERG, H.:
Transportkinetik einiger schwacher organischer Säuren im proximalen Konvolut der Rattenniere.
Inaug. Diss. Berlin (1964)

(73) SONNENBERG, H. und P. DEETJEN:
Methode zur Durchströmung einzelner Nephronabschnitte.
Pflügers Arch. 278 669 (1964)

(74) SONNERBERG, H., H. OELERT and BAUMANN, K.:
Proximal tubular reabsorption of some organic acids in the rat kidney in vivo.
Pflügers Arch. 286 171 (1965)

(75) SOUGIN-MIBASHAN, R. and M. HORWITZ:
The uricosuric action of ethylbiscoumacetate.
The Lancet 268 (55 I) 1191

(76) THURAU, K. und P. DEETJEN:
Kinematographische Untersuchungen am Warmblüternephron.
Nachr. Akad. Wiss. Göttingen Math. Phys. Kl. 1961/2

(77) ULLRICH and MARSH:
Kidney water and electrolyte metabolism.
Ann. rev. Physiol. 25 115 (1963)

(78) VORBURGER, C. and F. REUBI:
Chlorothiazid und Harnsäureausscheidung.
Helv. med. Acta 30 593 (1963)

(79) WINDHAGER, E.E.:
Säureexcretion und Ammoniakausscheidung.
3. Symp. Ges. Nephr. 37 (1964)

(80) WIRZ:
Tubulusfunktionen, Membrantransporte, Harnkonzentrierung.
Handbuch der inneren Medizin VIIIa 99 (1968)

(81) YÜ, T.F., L. BERGER, S. KUPFER and A.B. GUTMAN:
Tubular secretion of urate in the dog.
Am. J. Phys. 199, 1199 (1960)

(82) YÜ, T.F. and A.B. GUTMAN:
Ultrafiltrability of urate in man.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 84 21 (1953)

(83) YÜ, T.F. and GUTMAN, A.B.:
Study of the paradoxical effects of salicylate in low, intermediate and high dosage on the renal mechanisms for excretion of urate in man.
J. clin. Invest. 38 1298 (1959)

(84) YÜ, T.F., L. BERGER and A.B. GUTMAN:
Renal function in gout. Effect of uric acid loading on renal excretion of uric acid.
Am. J. Med. 33 829 (1962)

(85) YÜ, T.F., L. BERGER and A.B. GUTMAN:
Suppression of the tubular secretion of urate by Pyrazinamide in the dog.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 107 905 (1961)

(86) ZINS, G.R. and I.M. WEINER:
Bidirectional urate transport limited to the proximal tubule in dogs.
Am. J. Physiol. 215 411 (1968)

(87) ZINS, G.R. and WEINER, I.M.:
Carrier mediated entry of urate into proximal tubule of mongrel dog.
Fed. Proc. 26 265 (1967)

(88) ZÖLLNER, N., G. STERN, W. GRÖBNER, W. DOFEL:
Über die Senkung des Harnsäurespiegels im Plasma durch Brenzbromaronum.
Klin. Wschr. 46 1318 (1968)

(89) ZÖLLNER, N.:
The renal excretion of Uric acid.
Progress in Nephrology 52 (1969)

Herrn Prof. Dr. P. DEETJEN möchte ich für die Überlassung des Themas der Arbeit und für vielfältige Hilfe bei der Durchführung danken.
Herrn Rainer GREGER möchte ich für die gute Zusammenarbeit danken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.
Herrn Dr. SILBERNAGL möchte ich für die Unterstützung bei technischen Schwierigkeiten danken.
Herrn Dipl.Phys. W. SCHNEIDER danke ich für Hilfeleistungen in theoretischen Problemen.
Frau ZACH, Fräulein OBER und Fräulein RUHLAND danke ich für med.-techn. Unterstützung.

Lebenslauf

Am 25. 12. 1945 wurde ich als Sohn des Dr. med. Karl Lang und seiner Frau Annelore, geb. Volkhardt in Ravensburg geboren.

Im Jahre 1949 zog unsere Familie in das benachbarte Markdorf, wo ich 4 Jahre lang die Volksschule besuchte. Im Herbst 1956 trat ich in die Klosterschule Schäftlarn ein, wechselte aber 3 Jahre später in das Graf-Zeppelin-Gymnasium Friedrichshafen über, wo ich im Frühjahr 1966 das Abitur absolvierte.

Im SS 1966 begann ich mein Studium der Medizin an der Universität München und legte dort nach dem WS 1967 das Vorphysikum, nach dem SS 1968 das Physikum ab.